



Inactivation bactérienne par photocatalyse hétérogène : application à Escherichia Coli

Majdi Kacem

► To cite this version:

Majdi Kacem. Inactivation bactérienne par photocatalyse hétérogène : application à Escherichia Coli. Génie des procédés. Université de Perpignan, 2015. Français. NNT : 2015PERP0018 . tel-01201981

HAL Id: tel-01201981

<https://theses.hal.science/tel-01201981>

Submitted on 18 Sep 2015

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE

Pour obtenir le grade de
Docteur

Délivré par
UNIVERSITE DE PERPIGNAN VIA DOMITIA

Préparée au sein de l'école doctorale
ED 305

Et de l'unité de recherche
PROMES – CNRS UPR 8521

Spécialité
Sciences de l'ingénieur

Présentée par
MAJDI KACEM

**Inactivation bactérienne par photocatalyse hétérogène
Application à *Escherichia Coli***

Soutenue le 07 - 07 - 2015 devant le jury composé de

Jeremy PRUVOST, PR, Université de Nantes	Rapporteur
Caroline ANDRIANTSIFERANA, MC, Université de Toulouse 3	Rapporteur
Anne-Marie POURCHER, DR, Irstea, Rennes	Examineur
Serge CHIRON, DR, IRD, Montpellier	Examineur
Vincent GOETZ, DR, CNRS, Perpignan	Directeur de thèse
Nathalie WERY, CR, INRA, Narbonne	Co-encadrant
Gael PLANTARD, MC, Université de Perpignan	Co-encadrant

RERMERCIEMENT

J'adresse mes remerciements à Mr Jeremy Pruvost, professeur à l'Université de Nantes, et Mme Caroline Andriantsiferana, Maître de Conférences à l'Université de Toulouse 3, d'avoir accepté d'être rapporteurs de ces travaux. Je remercie également Mme Anne Marie Pourcher, Directrice de recherche à l'IRSTEA de Rennes, ainsi que Mr Serge Chiron, Directeur de recherche à l'Université de Montpellier 2, de faire partie du jury de thèse.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Mr Vincent Goetz, directeur de recherche au laboratoire PROMES et directeur de ma thèse, pour m'avoir fait confiance dès le stage de fin d'étude de Master puis pour ce projet. Sa disponibilité, ses connaissances et son encadrement en continu m'ont été indispensables afin de mener à bien ces trois années. Que Mr Gael Plantard, Maître de conférences à l'Université de Perpignan et Mme Nathalie Wery, Chargée de recherche au laboratoire LBE de l'INRA, soient également vivement remerciés pour leurs soutiens, leurs encouragements ainsi que leurs encadrements exemplaires de ces travaux. Je souhaite également remercier Mr Jean-Pierre Cambon et Mr Gilles Hernandez, autant pour leurs qualités humaines que pour leurs aides précieuses tout au long de la thèse.

Mes remerciements se tournent aussi vers tous les amis que j'ai pu côtoyer au laboratoire PROMES pendant ces trois années, en particulier Monica, Mr Eynard, Thomas, Mouchira, Faissel, Mr Nou, Remi, Sullivan, Aurélie, Mirek et beaucoup d'autres qui ont partagé avec moi cette magnifique expérience.

Enfin, une pensée particulière pour mon père, Noureddine, ma mère, Asia, ma sœur, Maroua et ma femme, Mouna, pour leurs présences et leurs soutiens constants tout au long de mes travaux.

RESUME

L'étude présentée dans ce mémoire s'inscrit dans le cadre de la réutilisation des eaux usées traitées par un procédé d'oxydation avancée (AOP), la photocatalyse hétérogène. Ce procédé, couplant le rayonnement UV et l'utilisation d'un photocatalyseur (TiO_2) au sein d'un réacteur, est envisagé comme procédé de traitement tertiaire pour la désinfection des effluents des secondaires. Les expérimentations photocatalytiques ont été réalisées sur une bactérie cible, *E. coli*. Elles ont été conduites en mode batch puis en mode continu. Les expérimentations en mode batch ont été réalisées sous irradiation contrôlée puis solaire. Les données expérimentales acquises sous irradiation contrôlée ont permis la comparaison des performances bactéricides de différents catalyseurs. Elles ont conduit en parallèle à la définition d'un modèle cinétique représentatif de la capacité bactéricide de chaque média. Ce modèle tient compte de la densité de flux d'irradiation et de l'interaction bactéries/catalyseur. Les expérimentations solaires ont permis de valider le modèle cinétique sous irradiation solaire puis, d'étudier l'inactivation bactérienne dans un effluent réel. Par ailleurs, le potentiel bactéricide du traitement photocatalytique en régime permanent a été évalué. Le fonctionnement du procédé continu a été parfaitement décrit par un modèle cinétique se basant sur la loi initialement définie en mode batch. Finalement, l'inactivation d'*E. coli* a été évaluée par différentes techniques de quantification bactérienne. Cela a permis d'apporter des informations sur l'état de viabilité des bactéries au cours du traitement photocatalytique et de décrire le mécanisme principal d'inactivation bactérienne par voie photocatalytique, la lyse membranaire.

Mots clés : Photocatalyse hétérogène, Désinfection solaire, Catalyseur en suspension, Catalyseur supporté, Adhésion bactérienne, Cinétique de désinfection, Modèle cinétique.

ABSTRACT

The study presented in this paper is part of the reuse of treated wastewater by advanced oxidation process (AOP), the heterogeneous photocatalysis. This process, coupling the UV radiation and the use of a photocatalyst (TiO_2) in a reactor, is envisaged as tertiary treatment process for disinfection of said secondary effluent. Photocatalytic experiments were performed on a target bacterium, *E. coli*. They were conducted in batch and continuous mode. The experiments in batch mode were performed under controlled irradiation and sunlight. The experimental data obtained under controlled irradiation allowed the comparison of the bactericidal performance of different catalysts. They led in parallel to the definition of a representative kinetic model of the bactericidal capacity of each medium. Solar experiments were used to validate the kinetic model under solar irradiation and then to study the bacterial inactivation in a real effluent. Furthermore, the potential of the photocatalytic bactericidal treatment at steady state was evaluated. The operation of the continuous process has been thoroughly described by a kinetic model based on the kinetic law originally defined in batch mode. Finally, inactivation of *E. coli* was evaluated by different bacterial quantification techniques. This has made it possible to highlight the main mechanism of the photocatalytic bacterial inactivation, the membrane lysis. It provided information about the "real" state of the bacteria viability during the photocatalytic treatment.

Keywords: Heterogeneous Photocatalysis, Solar disinfection, Suspended catalyst, Supported catalyst, Bacterial adhesion, Disinfection kinetic, Kinetic model.

SOMMAIRE

LISTE DES TABLEAUX	11
LISTE DES FIGURES	12
ACRONYMES	15
NOMENCLATURES.....	16
INTRODUCTION GENERALE.....	19
CHAPITRE I Synthèse bibliographique	24
Introduction	25
I-Présentation des eaux usées	26
I-1 Contamination chimique.....	26
I-2 Contamination microbiologique	27
I-2-1 Les virus	29
I-2-2 Les protozoaires	29
I-2-3 Les helminthes.....	29
I-2-4 Les bactéries	29
I-2-4-1 <i>Structure et classification</i>	29
I-2-4-2 <i>Les bactéries pathogènes</i>	31
II-Procédés de traitement des eaux usées	32
II-1 Notion d'indicateur d'efficacité de traitement.....	32
II-2 Procédés de traitement conventionnels	33
II-2-1 Le traitement primaire.....	33
II-2-2 Le traitement secondaire	33
II-2-3 Le traitement tertiaire.....	34
III- La photocatalyse hétérogène : un procédé d'oxydation avancée (POA).....	37
III-1 Généralité sur les POA.....	37
III-2 Principe de la photocatalyse hétérogène	39
III-3 Mécanismes de la photocatalyse hétérogène.....	40
III-4 Le semi-conducteur TiO_2	43
III-5 Paramètres physico chimiques influençant la photocatalyse hétérogène.....	45
III-5-1 Influence de la concentration et de la mise en forme du catalyseur	45
III-5-2 Influence du flux photonique incident	46

III-5-3 Influence de la composition du milieu aqueux	47
III-6 Application de la photocatalyse hétérogène à la désinfection dans l'eau	47
III-6-1 Les études sur la désinfection	47
III-6-2 Vers l'utilisation du rayonnement solaire pour la désinfection des eaux.....	50
III-7 Mécanismes de la désinfection par photocatalyse hétérogène	52
III-7-1 Effet photolytique	52
III-7-2 Effet photocatalytique.....	53
III-8 Modélisation du processus de désinfection par photocatalyse hétérogène	55
III-9 Conditions de mesure et évaluation de la réduction microbienne.....	60
Conclusion.....	61
CHAPITRE II Inactivation d' <i>Escherichia coli</i> par photocatalyse hétérogène dans un réacteur fermé	63
Introduction	64
I- Présentation de l'indicateur de choix : <i>Escherichia coli</i>	66
I-1 Portrait	66
I-2 Méthode de quantification : la microplaque MUG/ <i>E. coli</i>	67
I-3 Culture bactérienne et préparation de la suspension mère.....	68
II- Matériaux photocatalytiques	69
II-1 Le TiO ₂ supporté: media Ahlstrom Grad 1048	70
II-2 TiO ₂ en poudre	71
II-2-1 Le Degussa P25.....	71
II-2-2 Le VP Aeroperl P25/20.....	71
III- Optimisation de la mise en œuvre du matériau	72
III-1 Le banc optique.....	72
III-2 Mode opératoire	73
III-3 Résultats et discussion	74
IV- Inactivation bactérienne sous irradiation artificielle.....	75
IV-1 Le montage de laboratoire	75
IV-2 Interaction bactérie - catalyseur.....	77
IV-2-1 Conditions expérimentales	77
IV-2-2 Mise en évidence de l'adhésion bactérienne	78
IV-2-3 Equilibres et cinétiques d'adhésion	79
IV-3 Condition de mesure préalable aux expérimentations photocatalytiques : Concentration optimale en catalyseur.....	84
IV-3-1 Mode opératoire.....	84

IV-3-2 Résultats et discussion	84
IV-4 Expérimentations photocatalytiques sous irradiation artificielle	85
IV-4-1 Conditions d'expérimentations	85
IV-4-2 Influence de la photolyse directe	87
IV-4-3 Influence du catalyseur	88
IV-4-4 Comparaison de l'efficacité des catalyseurs	90
V- Modélisation de l'inactivation bactérienne par photocatalyse hétérogène	94
V-1 Dérivation du modèle cinétique	94
V-1-1 Bilans de matière	94
V-1-2 Vitesses d'adhésion et d'inactivation bactérienne	97
V-2 Validation du modèle cinétique	100
V-2-1 Validation sous irradiation artificielle	100
V-2-2 Validation en fonction du volume total à traiter	104
V-3 Simulation de l'évolution bactérienne dans les phases liquide et en adhésion au cours de la réaction photocatalytique	105
VI- Inactivation bactérienne sous irradiation solaire	108
VI-1 Le pilote	108
VI-2 Expérimentations photocatalytiques sous irradiation solaire	110
VI-2-1 Conditions expérimentales	110
VI-2-2 Influence de la source lumineuse	110
VI-3 Validation du modèle cinétique sous irradiation solaire	113
VI-4 Performance de la photocatalyse hétérogène solaire pour le traitement d'un effluent réel	114
Conclusion	116
CHAPITRE III Inactivation d' <i>Escherichia coli</i> par photocatalyse hétérogène dans un réacteur ouvert	119
Introduction	120
I- Le pilote	122
II- Etudes préliminaires	123
II-1 Mise en route du pilote	123
II-2 Détermination du temps de séjour	125
III- Inactivation d' <i>E. coli</i> en régime permanent	127
III-1 Conditions d'expérimentation	127
III-2 Influence de l'adhésion bactérienne en absence d'irradiation	127
III-3 Influence de la photolyse	129
III- 4 Influence de la densité de flux d'irradiation	130

III-5 Influence du temps de séjour.....	132
IV- Modélisation de l'inactivation bactérienne en régime permanent	134
IV- 1 Dérivation du modèle cinétique	134
IV-2 Validation du modèle cinétique	136
Conclusion.....	139
CHAPITRE IV Inactivation d' <i>Escherichia coli</i> par photocatalyse hétérogène évaluée par culture, q-PCR et v-q-PCR	141
Introduction	142
I- Partie expérimentale	144
I-1 Conditions d'expérimentation photocatalytique	144
I-2 Analyse qualitative par microscopie à épi-fluorescence (Live Dead Backlight).....	145
I-2-1 Principe.....	145
I-2-2 Protocole expérimental	145
I-2-3 Validation du protocole	147
I-3 Analyse quantitative par q-PCR	148
I-3-1 Principe.....	148
I-3-2 Protocole expérimental	149
I-3-2-1 Extraction/purification de l'ADN.....	149
I-3-2-2 Amplification de l'ADN.....	150
I-4 Analyse quantitative par v-q-PCR	150
I-4-1 Principe.....	150
I-4-2 Protocole expérimental	151
I-4-3 Validation du protocole	152
II- Mécanisme d'inactivation bactérienne par voie photocatalytique.....	153
II-1 Mise en évidence de la lyse membranaire.....	154
II-2 Cinétiques de dégradation bactérienne	155
III- Résistance bactérienne au traitement photocatalytique.....	158
Conclusion.....	163
CONCLUSION GENERALE	166
PUBLICATIONS	172
COMMUNICATIONS	172
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	174

LISTE DES TABLEAUX

Chapitre I

Tableau I- 1: Paramètres physico-chimiques d'une eau usée [Asano et al., 2007].	27
Tableau I- 2: Microorganismes pathogènes susceptibles d'être présents dans une eau résiduaire brute [WHO et al., 2006 ; Asano et al., 2007].	28
Tableau I- 3: Bactéries pathogènes les plus fréquentes dans les eaux usées brutes [Asano et al., 1998 ; Baumont, 2004].	32
Tableau I- 4: Normes de réutilisation des eaux usées traitées pour différents niveaux de qualité de l'eau (A : culture et espaces verts / B : pâturage / C : culture florale / D : forêt d'exploitation) [Arrêté du 2 août 2010].	34
Tableau I- 5: Energies de bande interdite et longueurs d'onde d'activation de différents semi-conducteurs [Malato et al., 1999].	44
Tableau I- 6: Modèles empiriques pour la description des cinétiques de désinfection microbienne dans l'eau [Marugan et al., 2008].	56

Chapitre II

Tableau II- 1: Caractéristiques et géométries du montage de laboratoire.	77
Tableau II- 2: Paramètres F, n du modèle de Freundlich obtenus pour les différents catalyseurs.	83
Tableau II- 3: Conditions de mesures des expérimentations photocatalytiques sous UV artificielle.	87
Tableau II- 4: Propriétés optiques et constantes cinétiques de corrélation en fonction du catalyseur utilisé: Transmittance (T_r); constante de corrélation linéaire par rapport à la densité du flux lumineux (α).	93
Tableau II- 5: Coefficients cinétiques d'adhésion bactérienne.	100
Tableau II- 6: Constantes cinétiques de dégradation photocatalytique pour les différents catalyseurs utilisés.	102
Tableau II- 7: Comparaison entre les caractéristiques du montage de laboratoire et du pilote solaire.	110

Chapitre III

Tableau III- 1: Caractéristiques géométriques et de fonctionnement de la boucle de traitement.	123
Tableau III- 2: Comparaison entre les données cinétiques obtenues en mode batch et continu.	137

Chapitre IV

Tableau IV- 1: Paramètres de régression non linéaire du modèle cinétique.	162
---	-----

LISTE DES FIGURES

Chapitre I

Figure I- 1: Exemples de microorganismes constituant la flore microbienne d'une eau usée : Entérovirus (a), Protozoaire (<i>Cryptosporidium parvum</i>) (b), Helminthe (c), Bactérie (<i>E. coli</i>) (d).....	28
Figure I- 2: Structure d'une bactérie [Hilali, 2012].	30
Figure I- 3: Classification des bactéries selon leurs formes : (a) les Coccis, (b) Les Bacilles (Exemple <i>E. coli</i>), (c) les Vibrions, (d) les Spirilles, (e) les Fusiformes [Hilali, 2012].	30
Figure I- 4: Structure de la paroi cellulaire en fonction de la classification Gram de la bactérie [Hilali, 2012].	31
Figure I- 5: Nombre de publications scientifiques (mots clefs : Heterogeneous photocatalysis (■), Solar photocatalysis (□)) [Plantard, 2014].	40
Figure I- 6: Principe de la photocatalyse sur une nanocristallite de TiO ₂ [Zaviska et al., 2009].	41
Figure I- 7: Mailles élémentaires des deux formes allotropiques du TiO ₂ les plus courantes: rutile et anatase [Augustynski , 1993].	43
Figure I- 8: Influence du flux lumineux sur la vitesse de la réaction photocatalytique [Herrmann, 1995].	47
Figure I- 9: Dommages provoqués par les radiations UV sur les cellules microbiennes [Malato et al., 2009].	52
Figure I- 10: Observations microscopiques par TEM des étapes de dégradation d' <i>E. coli</i> au cours d'un traitement de photocatalyse en présence du TiO ₂ en suspension ; (1) lyse de la membrane cellulaire, (2) destruction de la membrane, (3) destruction des composantes intracellulaires [Pigeot-Rémy et al., 2011].	54

Chapitre II

Figure II- 1: Portrait photographique d' <i>E. coli</i>	67
Figure II- 2: Photographie d'une microplaque MUG/ <i>E. coli</i>	68
Figure II- 3: Cinétique de croissance d' <i>E. coli</i> à pH neutre et à température égale à 37°C.	69
Figure II- 4: Media Ahlstrom Grad 1048	70
Figure II- 5: Poudre de TiO ₂	71
Figure II- 6: Photographie du banc optique (a) Principe de mesure de la transmittance à travers la sphère d'intégration (b).	73
Figure II- 7: Evolution de la transmittance en fonction du produit de la concentration en TiO ₂ par le trajet optique utilisant la poudre Degussa P25 (●), la poudre VP Aeroperl (○).	75
Figure II- 8: Réacteur fermé fonctionnant sous UV artificielle.....	76
Figure II- 9: Géométrie du réflecteur CPC [Correia, 2011].	76
Figure II- 10: Observation microscopique au MEB de la bactérie <i>E. coli</i> en absence de catalyseur (a); au bout de 30 min de contact avec le: Degussa P25 (b), le VP Aeroperl (c).	79
Figure II- 11: Cinétiques d'adhésion d' <i>E. coli</i> pour différentes charges bactériennes initiales utilisant le: Degussa P25(a), VP Aeroperl (b), média Ahlstrom(c).	81
Figure II- 12: Profils des équilibres d'adhésion bactériennes utilisant: le VP Aeroperl (o), le Degussa P25 (□), le média Ahlstrom (Δ).	82

Figure II- 13: Evolution de la constante de vitesse d'inactivation bactérienne initiale en fonction de la concentration en TiO_2 Degussa P25.	85
Figure II- 14: Inactivation par photolyse d' <i>E. coli</i> sous : $5 \text{ W.m}^{-2}(\Delta)$, $10 \text{ W.m}^{-2}(\circ)$, $20 \text{ W.m}^{-2}(\times)$, $35 \text{ W.m}^{-2}(\square)$	87
Figure II- 15: Cinétiques d'inactivation photocatalytique d' <i>E. coli</i> utilisant le Degussa P25 (a), le VP Aeroperl (b), le média Ahlstrom (c), sous $0 \text{ W.m}^{-2}(\Delta)$, $5 \text{ W.m}^{-2}(\circ)$, $10 \text{ W.m}^{-2}(\square)$, $20 \text{ W.m}^{-2}(\times)$, $35 \text{ W.m}^{-2}(\diamond)$	89
Figure II- 16: Cinétiques initiales de l'inactivation d' <i>E. coli</i> par photolyse sous densité de flux lumineux: $5 \text{ W.m}^{-2}(\circ)$, $10 \text{ W.m}^{-2}(\square)$, $20 \text{ W.m}^{-2}(\times)$, $35 \text{ W.m}^{-2}(\diamond)$	91
Figure II- 17: Cinétiques initiales de l'inactivation d' <i>E. coli</i> par photocatalyse utilisant le Degussa P25, sous densité de flux lumineux: $5 \text{ W.m}^{-2}(\circ)$, $10 \text{ W.m}^{-2}(\square)$, $20 \text{ W.m}^{-2}(\times)$, $35 \text{ W.m}^{-2}(\diamond)$	91
Figure II- 18: $k=f(I)$ en absence de catalyseur (photolyse) (\circ); utilisant le Degussa P25(\square), le VP Aeroperl (\diamond), le média Ahlstrom (Δ).	92
Figure II- 19: Adhésion en absence d'irradiation, résultats de simulation (trait continu) utilisant le Degussa P25(a), le VP Aeroperl (b), le média Ahlstrom (c).	101
Figure II- 20: Résultats de simulation de la dégradation photocatalytique (trait continu) utilisant le Degussa P25 (a), VP Aeroperl (b), média Ahlstrom (c) pour différentes densités de flux d'irradiation : $0 \text{ W.m}^{-2}(\Delta)$, $5 \text{ W.m}^{-2}(\circ)$, $10 \text{ W.m}^{-2}(\square)$, $20 \text{ W.m}^{-2}(\times)$, $35 \text{ W.m}^{-2}(\diamond)$	103
Figure II- 21: Evolution expérimentale et simulée (trait continu) de l'inactivation bactérienne au cours du temps d'irradiation utilisant le Degussa P25 en suspension et pour différents volumes traités: $0.5 \text{ L}(\circ)$, $1 \text{ L}(\square)$, $3 \text{ L}(\times)$, $5 \text{ L}(\Delta)$	105
Figure II- 22: Simulation de l'évolution bactérienne au cours d'un traitement photocatalytique en fonction du temps de résidence dans la phase liquide : en absence d'irradiation (L0), en présence d'irradiation (L1) et dans la phase en adhésion : en absence d'irradiation (S0), en présence d'irradiation (S1).	106
Figure II- 23: Pilote solaire.	109
Figure II- 24: Inactivation d' <i>E. coli</i> par photolyse solaire au cours du temps d'irradiation dans la solution de Ringer ; profil de l'irradiation solaire (trait continu).	111
Figure II- 25: Inactivation d' <i>E. coli</i> par photocatalyse solaire au cours du temps d'irradiation dans la solution de Ringer; profil de l'irradiation solaire (trait continu).	111
Figure II- 26: Inactivation d' <i>E. coli</i> par photolyse: sous UV artificielle (\blacktriangle), sous UV solaire (Δ) ; par photocatalyse : sous UV artificielle (\blacksquare), sous UV solaire (\square).	113
Figure II- 27: Evolution expérimentale (\circ) et simulée (trait continu) de la dégradation bactérienne au cours du temps d'irradiation utilisant le Degussa P25 en suspension et sous irradiation solaire ; Densités de flux d'irradiation solaire (trait discontinu).	114
Figure II- 28: Inactivation d' <i>E. coli</i> par photolyse en fonction de la nature de l'effluent traité : solution de Ringer (\blacksquare), effluent réel stérile (\bullet), effluent réel brut (\blacktriangle).	115
Figure II- 29: Inactivation d' <i>E. coli</i> par photocatalyse utilisant le Degussa P25 en fonction de la nature de l'effluent traité : solution de Ringer (\square), effluent réel stérile (\circ), effluent réel brut (Δ).	115

Chapitre III

Figure III- 1: Réacteur ouvert parfaitement agité : apparence (a) ; schéma du circuit (b): bac de remplissage du circuit (1), pompe centrifuge (2), photo-réacteur plan (3), panneau de Leds UV (4), soutirage fluide (5), alimentation (6), pompe péristaltique (7), bac de récupération du fluide (8), bac d'alimentation du fluide (9).	122
---	-----

Figure III- 2: Evolution de la concentration bactérienne à l'intérieur de la boucle de traitement (en circuit fermé) dans le noir et en absence de catalyseur.	124
Figure III- 3: Evolution expérimentale (Δ) et théorique (trait continu) de la concentration bactérienne en sortie de la boucle de traitement en fonction du temps ; mesures expérimentales du signal échelon positif (\bullet) ; mesures expérimentales du signal échelon négatif (\bullet).	126
Figure III- 4: Evolution de la concentration bactérienne en sortie de la boucle de traitement dans le noir en absence (+) et en présence du catalyseur (\diamond).	128
Figure III- 5: Inactivation bactérienne sous une densité de flux d'irradiation de 35 W.m^{-2} obtenue par photolyse (+), photocatalyse (Δ).	129
Figure III- 6: Inactivation bactérienne par photocatalyse sous une densité de flux d'irradiation de : 10 W.m^{-2} (\diamond), 20 W.m^{-2} (o), 35 W.m^{-2} (Δ).	131
Figure III- 7: Inactivation bactérienne par photocatalyse sous une densité de flux d'irradiation de 35 W.m^{-2} et sous un débit d'écoulement de : 0.06 L.h^{-1} (\diamond), 0.04 L.h^{-1} (o), 0.025 L.h^{-1} (Δ).	133
Figure III- 8: Evolution de la concentration bactérienne expérimentale et simulée dans l'effluent de sortie dans le noir (0 h à 30 h) puis sous une densité d'irradiation : 10 W.m^{-2} (\diamond), 20 W.m^{-2} (o), 35 W.m^{-2} (Δ).	136
Figure III- 9: Evolution de la concentration bactérienne expérimentale et simulée dans l'effluent de sortie dans le noir (0 h à 30 h) puis sous irradiation de 35 W.m^{-2} pour différents débits d'écoulement : 0.06 L.h^{-1} (\diamond), 0.04 L.h^{-1} (o), 0.025 L.h^{-1} (Δ).	136

Chapitre IV

Figure IV- 1: Protocole de marquage d'une suspension bactérienne via le kit LIVE DEAD Backlight: prélèvement (1), concentration (2), lavage (3), dilution (4), marquage (5).	146
Figure IV- 2: (a) Microscope à épi fluorescence, (b) Trajet optique.	147
Figure IV- 3: Observation sous microscope à épi fluorescence du contrôle (E+) (a) ; du contrôle (E-) (b).	148
Figure IV- 4: Principe de la détection sélective des bactéries viables par v-q-PCR utilisant le PMA.	151
Figure IV- 5: Amorçage de l'adhésion du PMA aux brins d'ADN par irradiation.	152
Figure IV- 6: Microphotographies d'échantillons d' <i>E. coli</i> traités par marquage LIVE DEAD et observés sous microscope à épifluorescence au cours du traitement photocatalytique: début du traitement ($t=0 \text{ min}$) (a), à 10 min d'irradiation (b), à 22 min d'irradiation (c).	154
Figure IV- 7: Cinétiques d'inactivation bactérienne d' <i>E. coli</i> en fonction du temps d'irradiation mesurés par : culture (o), q-PCR (\square) et v-q-PCR (Δ) ; limite de quantification par q-PCR (--), limite de quantification par v-q-PCR (--).	156
Figure IV- 8: Mesures expérimentales et simulées (trait continu) de l'inactivation d' <i>E. coli</i> par photocatalyse hétérogène utilisant le Degussa P25 et sous irradiation 35 W.m^{-2} par: culture (\blacktriangle), répliquât culture (Δ) ; v-q-PCR (\bullet), répliquât v-q-PCR (o).	161

ACRONYMES

ADN	Acide DésoxyriboNucléique
ARN	Acide RiboNucléique
BA	Boue Activée
BAM	Bioréacteur A Membrane
BC	Bande de Conduction
BF	BioFiltre
BV	Bande de Valence
CCD	Charge Coupled Device
CF-DP	Coagulation/Floculation-Décantation Primaire
CoA	Coenzyme A
COHV	Composé Organique Halogène Volatil
COV	Carbone Organique Volatil
CPC	Compound Parabolic Collector
DBO5	Demande Biologique en Oxygène (5 jours)
DCO	Demanche Chimique en Oxygène
DD	Décanteur Digesteur
DP	Décanteur Primaire
EMA	MonoAzide d'Ethidium
ERM	Erreur Relative Moyenne
FS	Fosse Septique
HAP	Hydrocarbure Aromatique Polycyclique
$h\nu$	Photon
IP	Iodure de Propidium
IR	Infra Rouge
LB	Lit Bactérien
LB	Luria Bertani
LDF	Linear Driving Force
LN	Lagunage naturel
MEB	Microscope Electronique à Balayage
MES	Matière En Suspension
MO	MicroOrganisme
MUG	4- méthylumbelliféryl- β -D-glucuronide
NK	Azote Kjeldahl
NPP	Nombre le plus probable
pH	Potentiel Hydrogène
PMA	MonoAzide de Propidium
PMMA	PolyMéthAcrylate de Méthyle
POA	Procédé d'Oxydation Avancée
PT	Phosphore Total
PZC	Point Zero Charge
q-PCR	Quantitative Polymerase Chain Reaction

REUT	Reutilisation des Eaux Usées Traitées
ROS	Reactive Oxygen Species
SODIS	SOLarDISinfection
STEP	STation d'EPuration
THM	Trihalométhane
UFC	Unité Formant Colonie
UFP	Unité Formant Plage
UV	Ultra Violet
VBC	ViaBle Cultivable
VBNC	ViaBle Non Cultivable
VIS	Visible
v-q-PCR	Viability quantitative Polymerase Chain Reaction

NOMENCLATURES

\dot{r}_{adh}	Vitesse d'adhésion bactérienne	$NPP.L^{-1}.s^{-1}$
\dot{r}_{ph}	Vitesse d'inactivation photocatalytique	$NPP.L^{-1}.s^{-1}$
\dot{m}	Débit volumique (réacteur batch)	$L.s^{-1}$
\dot{r}	Vitesse d'inactivation en régime permanent	$NPP.L^{-1}.h^{-1}$
C	Vitesse de la lumière	$m.s^{-1}$
C_e	Concentration bactérienne dans l'effluent d'entrée	$NPP.L^{-1}$
C_{eq}	Concentration bactérienne à l'équilibre avec le catalyseur	$NPP.L^{-1}$
C_s	Concentration bactérienne dans l'effluent de sortie	$NPP.L^{-1}$
C_t	Cycle Threshold	-
C_{TiO_2}	Concentration en catalyseur	$g.L^{-1}$
e	Epaisseur	mm
F	Coefficient de Freundlich	-
f	Coefficient d'inhibition dans la phase liquide	-
f'	Coefficient d'inhibition dans la phase en adhésion	-
h	Constante de planck	eV
I	Densité de flux d'irradiation (surfactive)	$W.m^{-2}$
I_0	Densité de flux d'irradiation du rayon incident	$W.m^{-2}$
I_s	Densité de flux d'irradiation du rayon sortant	$W.m^{-2}$
I_r	Densité de flux d'irradiation (volumique moyenne)	$W.m^{-3}$
k	Coefficient cinétique d'inactivation bactérienne	s^{-1}
K_s	Coefficient global de transfert de masse	s^{-1}
L	Longueur du trajet optique du rayonnement émis	cm
n	Coefficient de Freundlich	-

\varnothing_{ext}	Diamètre extérieur	mm
\varnothing_{int}	Diamètre intérieur	mm
q_e	Densité de bactéries sur la surface du catalyseur	NPP.m ⁻²
Q_{UV}	Quantité d'énergie UV cumulée	kJ.L ⁻¹
Q	Débit d'alimentation (réacteur continu)	L.h ⁻¹
S_{cat}	Surface du catalyseur par unité de volume de réacteur/volume total	m ² .L ⁻¹
S_r	Surface du réacteur (irradiée)	m ²
T	Température	°C
T_{90}	Temps de réduction décimale	h
T_r	Transmittance	%
t_r	Temps d'irradiation	h
t_s	Temps de séjour dans le noir	h
V_E	Volume d'un échantillon	L
V_r	Volume du réacteur	L
V_T	Volume Total	L
V_{tank}	Volume du réservoir de stockage	L
λ	Longueur d'onde du rayonnement émis	nm
α	Coefficient cinétique de corrélation	m ² .J ⁻¹
α'	Coefficient cinétique de corrélation	m ² .J ⁻¹
ε_{O_3}	Coefficient d'absorption molaire	L.mol ⁻¹ .cm ⁻¹
θ	Temps de séjour moyen dans le pilote	h

INTRODUCTION GENERALE

La raréfaction de l'eau conduit bien souvent les pays à se tourner vers des modes d'approvisionnement alternatifs. La réutilisation des eaux usées traitées (REUT) en fait partie. La REUT recouvre deux notions, d'abord le traitement des eaux usées ensuite la réutilisation proprement dite. Ce concept est actuellement en pleine croissance pour différentes activités. En effet, contrairement aux autres pays européens dont la législation permettait l'exploitation des eaux usées, la France, suite à l'arrêté du 2 août 2010, ne permet que très récemment l'exploitation de cette ressource. Dans des zones de fortes contraintes en matière de disponibilité des eaux, cette pratique permet d'irriguer des cultures et espaces verts, contribue à préserver la qualité de l'environnement, évite de prélever l'eau des rivières en période d'étiage où le débit est réduit, limite la surexploitation des nappes entraînant l'assèchement de certaines zones humides et empêche les rejets estivaux directs en protégeant les zones d'usages sensibles en aval (baignade et loisirs nautiques ...).

Les eaux usées sont celles rejetées par les collectivités, les industries et les particuliers. Elles sont généralement chargées en polluants organiques (17- β Estradiol, Estriol, Bisphénol A,...) et inorganiques (Zinc, Bore, Aluminium, Cadmium, Mercure,...), mais aussi en microorganismes (bactéries, virus, protozoaires, helminthes). L'usage de ce type d'eau à l'état brut est ainsi fortement déconseillé car vecteur d'un risque sanitaire important pour l'homme et l'environnement. Pour limiter au mieux ces problèmes, les eaux usées sont envoyées dans des stations d'épuration (STEP) qui sont un ensemble de dispositifs conçus pour traiter, au fur et à mesure, les différents polluants. L'assemblage de tous ces procédés est aussi connu sous le nom de filière de traitement. Une STEP « classique » est composée d'équipements de prétraitements, d'un traitement primaire, suivi par un traitement secondaire (biologique). Le taux de dépollution atteint par cette simple organisation peut suffire pour répondre aux normes de rejets en milieu naturel. Les rendements de stations récentes peuvent atteindre 90% d'abattement de pollution. Cependant, dans une perspective de réutilisation, un traitement tertiaire visant à éliminer les pollutions persistantes et microbiennes s'avère nécessaire. Ce traitement concerne éventuellement une étape de désinfection qui consiste à réduire, voir éliminer les agents microbiens pour répondre aux normes fixées par l'arrêté du 2 août 2010.

Avec pour objectif d'améliorer la qualité microbiologique des eaux usées en sortie de STEP, de nouveaux procédés tertiaires ont vu le jour : les procédés d'oxydation avancée (POA). Ces procédés, fonctionnant à température et pression proches des conditions ambiantes, mettent en

œuvre une activation chimique, catalytique, ou photochimique pour activer par exemples le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), l'oxygène (O_2) ou un photocatalyseur solide et induire la formation d'espèces fortement oxydantes telles que les radicaux hydroxyles (OH^\bullet) [Zhou et Smith, 2001 ; Suty et al., 2003]. Ce dénominateur commun, qui est la production d'espèces radicalaires extrêmement oxydantes et réactives, permet d'atteindre des niveaux d'oxydation poussés pour les microorganismes difficiles à éliminer par les procédés de traitement conventionnels. Ces procédés d'oxydation sont aujourd'hui de plus en plus envisagés dans le paysage industriel pour des applications de désinfection des eaux usées en tant que traitements tertiaires.

Parmi les procédés de désinfection par oxydation avancée, une technique semble donner des résultats probants, la photocatalyse hétérogène [Cho et al., 2004 ; Fernandez et al., 2005, Gummy et al. 2006 ; Ochuma et al., 2007 ; Malato et al., 2009]. Cette technique de traitement est basée sur la production de radicaux hydroxyles via la photo-excitation d'un semi-conducteur solide, placé directement sous rayonnement UV. Le semi conducteur peut être utilisé sous la forme de poudre nanométrique mise en suspension ou fixé sur un support solide [Elatmani, 2013 ; Kacem et al., 2014]. Il existe aujourd'hui un consensus autour de l'utilisation du catalyseur en suspension comme catalyseur de référence. Cependant, la forme pulvérulente pose le problème de la séparation liquide-solide en fin de traitement. Les axes de développement s'orientent donc vers l'utilisation des médias catalytiques supportés [Kikuchi et al., 1997 ; Huang et al., 1998 ; Rincon et Pulgarin, 2003 ; Sunada et al., 2003].

Par ailleurs, dans un contexte de développement durable, le transfert de cette technologie existante sous irradiation UV artificielle vers une utilisation de l'énergie solaire semble prometteur. Cependant, l'utilisation de l'énergie solaire pose deux contraintes à savoir la gestion des intermittences et la disponibilité de la ressource dans le domaine UV. En effet, les catalyseurs actuels ne sont sensibles qu'au rayonnement UV, soit à des longueurs d'onde inférieures à 400 nm. Or ce domaine, qui ne représente que 5% du spectre solaire, correspond à 50 W.m^{-2} dans les conditions d'ensoleillement les plus favorables. L'intermittence et la discontinuité de la ressource imposent également de mettre en place un outil de simulation pour décrire les conditions de fonctionnement du réacteur. La modélisation de la désinfection par photocatalyse hétérogène constitue à ce titre une étape essentielle dans la phase de développement vers une application à une échelle plus importante. Celle-ci permet de prendre en compte les variations du rayonnement dues aux cycles journaliers et saisonniers dans la prédiction du fonctionnement de ce type de procédé.

L'étude présentée dans ce mémoire cible la photocatalyse hétérogène couplant le rayonnement UV (artificiel et solaire) et l'utilisation d'un photocatalyseur (TiO_2) au sein d'un réacteur. L'objectif principal est d'évaluer le potentiel de la photocatalyse hétérogène en tant que traitement tertiaire pour la désinfection des eaux usées. Cette tâche s'avère difficile du fait que les effluents contiennent une large variété de microorganismes indésirables et qu'il n'est pas possible de tous les dénombrer individuellement. Dans ce cadre, l'arrêté du 2 août 2010 relatif à la réutilisation des eaux usées traitées (en France) propose la recherche de germes indicateurs d'efficacité de traitement. Ces indicateurs présentent des persistances dans l'eau proches de celles des principaux organismes pathogènes constituant les eaux usées. En vue de travailler dans un premier temps sur un cas simplifié, cette étude sera ciblée sur un indicateur d'origine bactérienne, à savoir *Escherichia coli*. Cette bactérie est indicatrice de contamination fécale. Elle est prédominante dans les eaux usées, facilement manipulable et est largement étudiée dans la littérature [Wei et al., 1994 ; Bekbolet et Araz, 1996; Huang et al., 2000; Wist et al., 2002 ; Kuhn et al., 2003 ; Rincon et al., 2004 ; Malato et al., 2009 ; Pigeot-Rémy et al. 2011 ; Kacem et al., 2014]. Le traitement de cette bactérie cible sera suivi principalement par une méthode de culture spécifique à la détection d'*E. coli*, la microplaque MUG/*E. coli*.

Le travail présenté dans ce mémoire se décompose en 4 chapitres. Le premier chapitre rapporte une base bibliographique permettant de justifier du choix des axes des travaux établis. Ce chapitre sera consacré, dans un premier temps, à une présentation d'ordre général sur la composition des eaux usées. Un intérêt particulier sera accordé à l'aspect bactériologique dans ces eaux. Ensuite, une présentation des différents procédés conventionnels de traitement des eaux usées ainsi que les procédés de traitement par oxydation avancée sera développée. La partie suivante consistera en une étude bibliographique approfondie sur le procédé de photocatalyse hétérogène. Les différents aspects inhérents à ce procédé, tels que son principe de fonctionnement, les caractéristiques du semiconducteur mis en œuvre, son application à la désinfection des microorganismes et son utilisation sous rayonnement solaire seront présentés.

Le deuxième chapitre se décompose en deux axes. Le premier concerne la mise en place d'une méthodologie expérimentale sous irradiation artificielle contrôlée. Il a pour objectifs d'étudier et comparer les performances bactéricides de différents catalyseurs dans une matrice simple. Il vise, par ailleurs, à mettre en place un modèle cinétique adapté aux médias

catalytiques afin de prédire le fonctionnement du procédé en fonction de différents paramètres clefs régissant le processus de désinfection. Le deuxième axe sera consacré à la réalisation d'expérimentations en extérieur dans des conditions d'irradiation solaire. Ces expérimentations visent à valider, en premier lieu, l'extrapolation du modèle cinétique (défini sous irradiation artificielle) dans des conditions solaires et à une échelle plus importante, puis à étudier les performances bactéricides de la photocatalyse hétérogène solaire dans un effluent réel.

Le troisième chapitre sera structuré par la conception et la réalisation d'un banc d'essais permettant le fonctionnement en régime permanent. Les expérimentations seront réalisées en flux continu et utilisant un catalyseur supporté. Ces expérimentations auront pour objectifs d'étudier l'effet de différents paramètres clefs régissant l'efficacité de désinfection de la bactérie cible en régime permanent, puis de valider la possibilité de prédire le fonctionnement du système ouvert à partir de la loi cinétique définie initialement dans le système fermé.

Le quatrième chapitre sera consacré à la mise en place d'une méthodologie expérimentale permettant d'évaluer la viabilité des bactéries lors de la désinfection. Il s'agira d'évaluer l'inactivation bactérienne de la bactérie *E. coli* en fonction de différentes techniques de quantification bactérienne. La comparaison entre ces techniques de quantification complémentaires permettra de mettre en avant l'importance de la méthode de mesure dans l'évaluation de l'efficacité du traitement photocatalytique. Elle permettra, par ailleurs, de décrire les principaux mécanismes de désinfection par photocatalyse hétérogène et à distinguer les populations bactériennes sensibles de celles résistantes au traitement photocatalytique.

Pour finir, une conclusion générale reprenant les points majeurs de ce travail ainsi qu'un certain nombre de perspectives d'études seront présentées.

CHAPITRE I Synthèse bibliographique

Introduction

L'eau potable est un enjeu essentiel et fait partie avec l'énergie des deux « matières premières » les plus déterminantes. Cependant, il est fréquent de constater son emploi pour des usages ne le justifiant pas tels que l'arrosage des espaces verts, le nettoyage des trottoirs ou celui des voitures. Afin de limiter cette utilisation déraisonnée, il convient de chercher des approvisionnements alternatifs. La Réutilisation des Eaux Usées Traitées (REUT) semble être une voie très prometteuse. Les eaux usées sont souvent chargées en contaminants organiques et inorganiques mais aussi en microorganismes. Ainsi, dans une perspective de réutilisation, des traitements sont mis en œuvre afin de répondre aux qualités requises de l'eau en fonction des usages envisagés. Dans ce cadre, la filière de traitement classique des eaux usées est insuffisante pour certains usages de REUT. En effet, quoique les techniques de traitement traditionnelles (notamment par voie biologique) puissent atteindre des taux d'abattement de microbes élevés (90 -95%), certains microorganismes pathogènes peuvent persister dans les eaux traitées. Ces microorganismes représentent souvent, même en faible concentration, un risque sanitaire important. Il devient alors indispensable de faire appel à des méthodes de désinfection complémentaires intégrées en aval du procédé de traitement classique. Des techniques émergentes communément appelées Procédés d'Oxydation Avancés (POA) semblent donner des résultats probants pour remplir cette fonction. En particulier, la photocatalyse hétérogène fait partie de cette famille. Cette technique est basée sur la production de radicaux hydroxyles via la photo-excitation d'un semi-conducteur solide placé directement sous rayonnement UV. Cette technique est l'illustration d'une écotechnologie permettant l'utilisation directe du rayonnement solaire.

La maîtrise de ce procédé de désinfection relève de plusieurs domaines allant de la connaissance des caractéristiques des microorganismes à désinfecter, des propriétés du semi conducteur mis en œuvre, en passant par la compréhension des mécanismes de désinfection, pour finir sur la modélisation du fonctionnement du procédé. Ainsi, le premier volet de ce chapitre sera dédié à une présentation d'indications sur la composition physicochimique et microbiologique des eaux usées. Une attention particulière sera accordée à la famille des bactéries dont fait partie l'indicateur *Escherichia coli* (retenu dans le cadre de cette étude comme indicateur d'efficacité de traitement). Le deuxième volet se focalisera sur la présentation de la notion d'indicateur d'efficacité de traitement ainsi que des procédés de traitement des eaux usées les plus répondus. Le troisième volet présentera un préambule sur les procédés de traitement par oxydation avancée et permettra d'aborder les principes de la

photocatalyse hétérogène, les propriétés du semi conducteur TiO_2 (siège de la réaction de formation des radicaux) ainsi que les paramètres influents sur la réaction photocatalytique. Le quatrième volet présentera les applications possibles de la photocatalyse pour la désinfection des microorganismes dans l'eau. Le transfert de cette technologie vers l'utilisation du rayonnement solaire sera également discuté. Finalement, le dernier volet sera dédié à la compréhension des aspects mécanistiques liés à la désinfection par voie photocatalytique, puis à la présentation des différents modèles cinétiques permettant de prédire le fonctionnement de ce processus.

I-Présentation des eaux usées

I-1 Contamination chimique

Les eaux usées sont des eaux altérées par les activités humaines à la suite d'un usage domestique, artisanale, industriel, agricole ou autre. Elles sont considérées comme polluées et doivent être traitées. Les eaux usées sont d'une composition complexe et souvent variable en fonction de leurs origines [Faby, 1997]. Elles peuvent être parfois qualifiées d'eaux grises lorsqu'il s'agit d'eaux peu chargées en matières polluantes (ex. eaux ménagères) ou d'eaux noires lorsqu'elles contiennent diverses substances plus polluantes ou plus difficiles à éliminer (ex. effluents industriels ; agricoles.). La composition des eaux usées traitées dépend d'une part de la composition des eaux usées brutes et d'autre part des techniques d'épuration appliquées.

Les eaux résiduaires admises à l'entrée d'une STEP véhiculent conventionnellement trois grands types de pollution chimique (tableau I-1) : la pollution carbonée (mesurée indirectement par les paramètres DCO et DBO_5), la pollution azotée et la pollution phosphorée. Ces pollutions se répartissent sous trois formes physiques : particulaire, colloïdale et dissoute.

Outre le carbone, l'azote et le phosphore, les eaux usées peuvent également contenir divers micropolluants (métaux, COV, HAP, pesticides, hormones,...). La composition des eaux usées en micropolluants à l'entrée de la station est par nature étroitement liée à la nature du bassin versant de collecte des eaux usées ; les apports peuvent être directs (effluents domestiques, industriels) ou indirects (ruissellement, retombées atmosphériques, etc.).

Quelle que soit la nature des traitements appliqués, les eaux usées restent chargées en substances minérales et organiques. En effet, plusieurs contaminants chimiques sont retrouvés de façon très ubiquitaire dans les effluents en sortie des STEP.

Tableau I- 1: Paramètres physico-chimiques d'une eau usée [Asano et al., 2007].

Paramètres	Valeur
pH	~ 8
Conductivité	1100 $\mu\text{S.cm}^{-1}$
DCO	750 mg.L^{-1}
DBO₅	350 mg.L^{-1}
MES	300 mg.L^{-1}
Lipides	100 mg.L^{-1}
NK	80 mg.L^{-1}
N-NH₄⁺	60 mg.L^{-1}
PT	20 mg.L^{-1}
P-PO₄³⁻	18 mg.L^{-1}

L'essentiel de ces flux est composé de métaux (jusqu'à 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$), de pesticides (jusqu'à 0.1 g.L^{-1}), de composés organiques volatiles (COV) (jusqu'à 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$), d'hormones (jusqu'à 0.1 $\mu\text{g.L}^{-1}$), etc. [Martin Ruel et al., 2011]. Néanmoins, selon l'avis de l'Agence Nationale de Sécurité sanitaire de l'alimentation de l'Environnement et du travail, les abattements entre l'entrée et la sortie d'une filière de traitement classique, sont en moyenne assez élevés pour la plupart des contaminants (>90 % notamment pour les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) et les composés organiques halogènes volatils COHV analysés).

I-2 Contamination microbiologique

Les microorganismes se trouvant dans les eaux usées se répartissent en quatre groupes : les virus, les protozoaires, les helminthes et les bactéries (figure I-1). Ces microorganismes proviennent de l'environnement et des matières fécales. Ils sont la cause de différentes infections chez l'être humain (gastro-entérite, maladies respiratoire, Hépatite A, B, Méningite, choléra, etc.) et peuvent être mortels dans certains cas selon leur pouvoir pathogène. Ce pouvoir dépend de la physiologie du microorganisme et de celle de l'hôte infecté.

La composition microbiologique des eaux usées brutes est extrêmement variable. Elle dépend de leur origine (domestique, industrielle) et des caractéristiques du réseau d'assainissement (séparatif, unitaire, mixte).

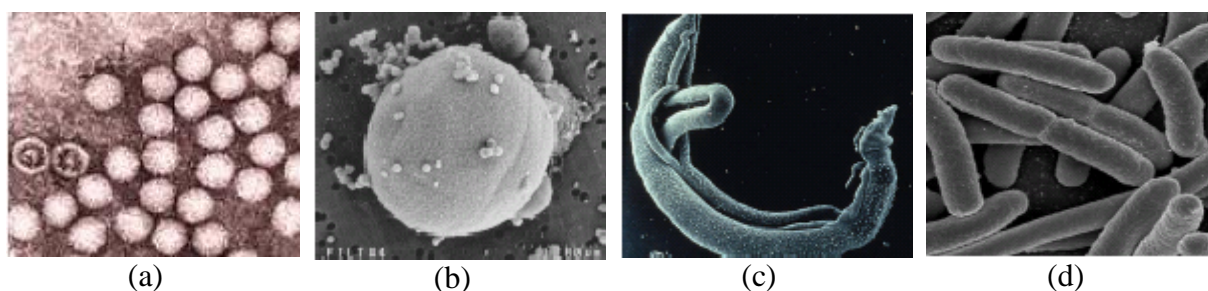


Figure I- 1: Exemples de microorganismes constituant la flore microbienne d'une eau usée : Entérovirus (a), Protozoaire (*Cryptosporidium parvum*) (b), Helminthe (c), Bactérie (*E. coli*) (d).

La diversité des contaminants microbiologiques, ainsi que leurs concentrations sont fonction de l'état sanitaire des populations, des industries raccordées, de l'origine hydrologique des eaux et de la saison [Boutin et al., 2009]. Le tableau I-2 présente une classification par famille des microorganismes les plus répons dans les eaux usées brutes dites « classique ».

Tableau I- 2: Microorganismes pathogènes susceptibles d'être présents dans une eau résiduaire brute [WHO et al., 2006 ; Asano et al., 2007].

Organismes	Concentration (unité/L)	Organismes indicateurs de pathogènes humains
Virus		
<i>Virus entériques</i>	$10^5 - 10^6$	<i>Coliphages somatiques</i>
<i>Rotavirus</i>	$10^2 - 10^5$	<i>Coliphages RNA - F</i>
Bactéries		
<i>Coliformes thermotolérants</i>	$10^8 - 10^9$	<i>Coliformes thermotolérants</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	$10 - 10^4$	<i>E. coli</i>
<i>Salmonella spp.</i>	$1 - 10^5$	
<i>Shigella spp.</i>	$10 - 10^4$	<i>Entérocoques intestinaux</i>
<i>Vibrio cholerae</i>	$10^2 - 10^5$	
Protozoaires		
<i>Cryptosporidium parvum</i>	$1 - 10^4$	<i>Clostridium perfringens</i>
<i>Entamoeba histolytica</i>	$1 - 10^2$	
<i>Giardia intestinalis</i>	$10^2 - 10^5$	
Helminthes		
<i>Ascaris lumbricoides</i>	$1 - 10^3$	<i>Œufs d'Ascaris</i>
<i>Ancylostoma duodenale</i>		
<i>Necator americanus</i>	$1 - 10^3$	
<i>Trichuris trichiura</i>	$1 - 10^2$	

I-2-1 Les virus

Les virus sont des parasites intracellulaires de très petite taille (10 à 350 nm) qui se multiplient uniquement dans une cellule hôte [Simmons et Xagorarakis, 2011]. Leur concentration dans les eaux usées est dans la plupart des cas comprise entre 10^2 et 10^6 UFP.L⁻¹ [WHO et al., 2006]. Leur isolement et leur dénombrement dans les eaux usées sont difficiles, ce qui conduit vraisemblablement à une sous-estimation de leur nombre réel. Ces microorganismes sont résistants dans l'environnement. Ils sont de faible dimension ce qui est à l'origine de leur possibilité de dissémination [Faby, 1997].

I-2-2 Les protozoaires

Les protozoaires sont des organismes unicellulaires munis d'un noyau, de taille comprise entre 1 et 200 µm [Schwartzbrod, 1999]. La plupart des protozoaires pathogènes sont des organismes parasites qui se développent aux dépens de leur hôte. Certains protozoaires adoptent au cours de leur cycle de vie une forme de résistance, appelée kyste. Leur concentration moyenne dans les eaux usées brutes peut atteindre 10^5 kystes.L⁻¹. Cette forme peut résister généralement aux procédés conventionnels de traitements des eaux usées.

I-2-3 Les helminthes

Les helminthes sont des vers multicellulaires fréquemment rencontrés dans les eaux résiduaires. Tout comme les protozoaires, ce sont majoritairement des organismes parasites. Dans les eaux usées, le nombre d'œufs d'helminthes peut être évalué entre 1 et 10^3 oeufs.L⁻¹ [Asano et al., 2007]. Beaucoup d'helminthes ont des cycles de vie complexes comprenant un passage obligé par un hôte intermédiaire. Le stade infectieux de certains helminthes est l'organisme adulte ou larve, alors que pour d'autres, ce sont les œufs. Les œufs et les larves sont résistants dans l'environnement et le risque lié à leur présence est à considérer pour le traitement et la réutilisation des eaux résiduaires.

I-2-4 Les bactéries

I-2-4-1 Structure et classification

Les bactéries sont des organismes unicellulaires simples (à l'image d'*E. coli* sur la figure I-1 (d)) et sans noyau [Harwood et al., 2005]. Leur taille est comprise entre 0,1 et 10 µm. La cellule bactérienne est délimitée par une membrane cytoplasmique protégeant la cellule de son milieu extérieur (Figure I-2).

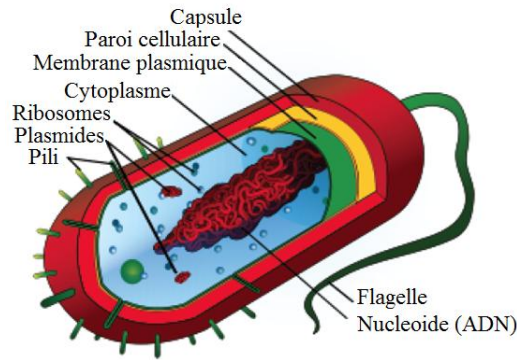


Figure I- 2: Structure d'une bactérie [Hilali, 2012].

Les bactéries présentent différents organes vitaux qui baignent dans un hydrogel colloïdal appelé cytoplasme, tels que les ribosomes (synthèse de protéines), les plasmides (résistance aux antibiotiques), le nucléotide (matériel génétique essentiel à la réplication) [Hilali, 2012]. Elles peuvent être munies d'un ou plusieurs flagelles afin de se déplacer dans le milieu où elles prolifèrent. Les eaux usées brutes contiennent environ 10^7 à 10^9 bactéries.L⁻¹. La majorité de ces organismes ne présentent pas un danger pour la santé et la concentration en bactéries pathogènes peut atteindre un ordre de 10^4 bactéries.L⁻¹ [Boutin et al., 2009]. Les bactéries sont utilisées aussi bien dans des applications industrielles, telle que la fabrication des produits médicaux (les vitamines, les vaccins, les antibiotiques et les stéroïdes), agroalimentaires que dans des activités de recherches. Entre les quelques milliers d'espèces de bactéries actuellement connues, il existe cinq morphologies principales: les bactéries cocci, les bacilles, les spirilles, les vibrions et enfin les fusiformes (Figure I-3).

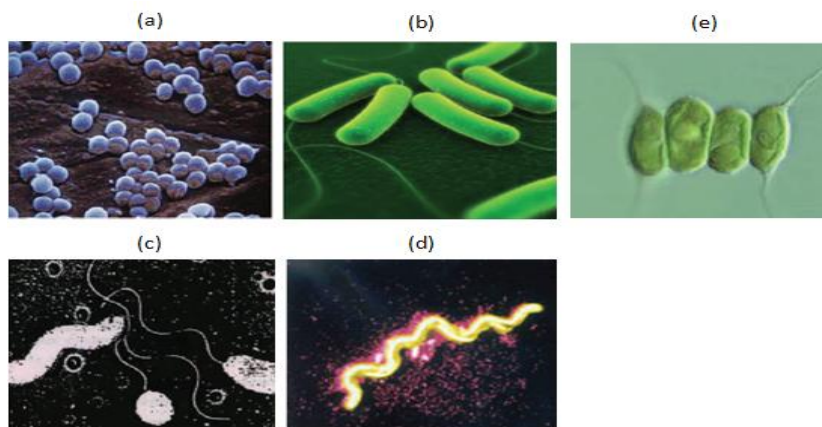


Figure I- 3: Classification des bactéries selon leurs formes : (a) les Cocci, (b) Les Bacilles (Exemple *E. coli*), (c) les Vibrions, (d) les Spirilles, (e) les Fusiformes [Hilali, 2012].

Selon Hans Christian Gram, un bactériologiste danois, les bactéries se classent en deux groupes majeurs à savoir les bactéries Gram-positives (Gram +) et les bactéries Gram-négatives (Gram -). Ces deux groupes de bactéries se distinguent par la composition de leur paroi cellulaire (Figure I-4).

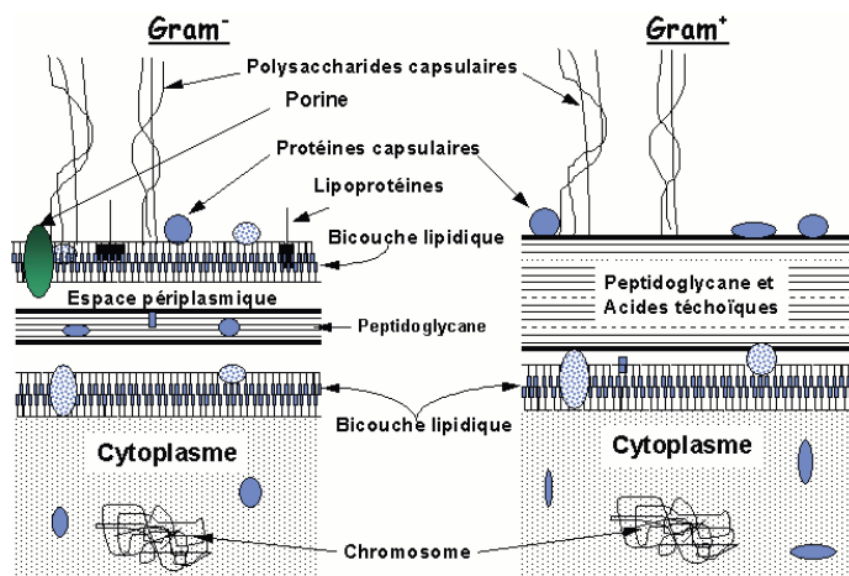


Figure I- 4: Structure de la paroi cellulaire en fonction de la classification Gram de la bactérie [Hilali, 2012].

Les bactéries Gram (-) ont une paroi fine et pauvre en peptidoglycanes. Cette paroi se présente sous la forme d'une couche mince (2 à 6 nm) entourée par une membrane externe d'environ 6 à 18 nm d'épaisseur, composée de lipopolysaccharides (50%), phospholipides (35%) et lipoprotéines (15%). Cette couche externe est traversée par des porines qui sont des trimères protéiques constituant des pores rendant cette structure perméable [Beveridge et Graham, 1991]. Contrairement aux bactéries Gram (-), la paroi des bactéries Gram (+) se présente sous forme d'une couche homogène et plus épaisse de peptidoglycane et d'acide téchoïque (20 à 80 nm d'épaisseur). Au sein de cette paroi, le peptidoglycane représente à peu près 80% de la paroi cellulaire. Le reste (10 à 20%) est formé d'acides téchoïques, de quantités mineures de lipides, de protéines et de lipopolysaccharides.

I-2-4-2 Les bactéries pathogènes

Les bactéries pathogènes causent des graves maladies infectieuses chez les humains et les animaux, bien que la grande majorité des bactéries soient inoffensives ou bénéfiques. Parmi

les maladies bactériennes les plus communes, on trouve la tuberculose provoquée par la bactérie *Mycobacterium tuberculosis* ou la pneumonie provoquée par des bactéries telles que *Streptococcus* et les *Pseudomonas*. Certaines infections bactériennes, traduisant à titre d'exemple des intoxications alimentaires, se contractent par ingestion de nourriture ou d'eau contaminée avec des bactéries fécales telles que *Shigella*, *Campylobactérie* et *Salmonella*. D'autres bactéries pathogènes peuvent causer également des infections telles que le tétanos, la fièvre typhoïde, la diphtérie, la syphilis et la lèpre. Le tableau I-3 résume les bactéries pathogènes les plus fréquentes, leurs symptômes ainsi que leurs modes de contaminations. Il est à préciser que certaines de ces bactéries sont peu ou pas présentes dans les eaux usées en France telles que *Vibrio Chloerae* et *Salmonella Typh*.

Tableau I- 3: Bactéries pathogènes les plus fréquentes dans les eaux usées brutes [Asano et al., 1998 ; Baumont, 2004].

Agent pathogène	Symptômes, maladie	Mode(s) de contamination
<i>Salmonella</i>	Salmonellose	Ingestion
<i>Salmonella Typhi</i>	Fièvre typhoïde	Ingestion
<i>Campylobacter jejuni</i>	Gastro-entérite	Ingestion
<i>Listeria monocytogènes</i>	Listériose	Ingestion
<i>Escherichia coli</i>	Syndrome Hémolytique et Urémique	Ingestion
<i>Shigella</i>	Dysenterie bacillaire	Ingestion
<i>Legionella</i>	Légionellose	Inhalation
<i>Vibrio cholerae</i>	Choléra	Ingestion

II-Procédés de traitement des eaux usées

II-1 Notion d'indicateur d'efficacité de traitement

Les eaux usées peuvent contenir une grande variété de microorganismes pathogènes qu'on ne peut pas tous quantifier individuellement au cours du traitement. Des microorganismes dits « indicateurs d'efficacité de traitement » servent ainsi de références pour estimer la capacité hygiénisante du traitement et sont utilisées dans la réglementation française. Ces indicateurs ne sont pas pathogènes. Ils sont très fréquents dans les eaux usées, facilement quantifiables et aussi résistants que les microorganismes pathogènes. Il n'existe pas d'indicateur universel qui soit aussi résistant que l'ensemble des pathogènes. Ainsi, l'association de plusieurs indicateurs semble être la meilleure solution [Horman et al., 2004 ; Harwood et al., 2005]. Au

regard des prescriptions de l'arrêté du 2 août 2010 (relatif à la réutilisation d'eaux usées traitées en vue d'irrigation de cultures et d'espaces verts), les entérocoques fécaux, *Escherichia coli*, les spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices (bactéries) et les Phages ARN F-spécifiques (virus) sont retenus comme indicateurs d'efficacité de traitement.

II-2 Procédés de traitement conventionnels

Il existe différents dispositifs de traitements adaptés à chaque pollution et à chaque usage. L'ensemble de ces dispositifs constitue une filière de traitement et a lieu dans une station d'épuration (STEP). Une STEP classique est composée d'équipements de prétraitements, d'un traitement primaire, d'un traitement secondaire, suivie par un traitement tertiaire éventuel.

II-2-1 Le traitement primaire

Lorsqu'il est nécessaire, le traitement primaire permet d'éliminer les matières particulaires (essentiellement les MES) par des procédés physiques ou physico-chimiques. Parmi les technologies les plus couramment utilisées à ce stade de l'épuration, on trouve le décanteur primaire (DP), le décanteur-digesteur (DD), la fosse septique (FS) pour les procédés physiques et la coagulation-floculation-décantation primaire (CF-DP) en tant que procédé physico-chimique. A ce stade du processus de traitement et une fois l'eau usée brute débarrassée des matériaux « grossiers » (déchets, sables, graisses, matières en suspension de grande taille, ...), on obtient en sortie un effluent dit effluent primaire. Le traitement primaire conduit à un faible abattement pour la plupart des micro-organismes (0-1 log), potentiellement adsorbés sur les matières décantées [Boutin et al., 2009].

II-2-2 Le traitement secondaire

L'étape qui succède le traitement primaire est le traitement secondaire ou traitement biologique. Cette étape vise à dégrader principalement les pollutions carbonées, azotées et phosphorées par l'action de bactéries (autotrophes, hétérotrophes). Parmi les traitements biologiques communément rencontrés, on cite les procédés à boues activées (BA), les lits bactériens (LB), les biofiltres (BF), le lagunage naturel (LN) et les bioréacteurs à membranes (BAM). Le traitement secondaire conduit à un abattement supérieur à celui qui est observé au cours du traitement primaire. Il varie d'un microorganisme à l'autre : 0-3 log pour les virus, les bactéries et les protozoaires, 1-2 log pour les helminthes [Lucena et al., 2004 ; Wery et al.,

2008]. Les traitements primaires et secondaires permettent un taux d'abattement moyen des microorganismes initialement présents dans les eaux usées brutes de l'ordre de 1 à 2 log. Au vue des normes de rejet des effluents secondaires décrites dans l'arrêté du 22 Juin 2007, cette efficacité de traitement peut suffire pour un rejet direct dans le milieu naturel. Cependant, pour atteindre l'objectif de REUT prescrit par l'arrêté du 2 août 2010 (tableau I-4) et qui lui-même dépend du type d'usage ultérieur de l'eau, un traitement tertiaire s'avère nécessaire.

Tableau I- 4: Normes de réutilisation des eaux usées traitées pour différents niveaux de qualité de l'eau (A : culture et espaces verts / B : pâturage / C : culture florale / D : forêt d'exploitation) [Arrêté du 2 août 2010].

Paramètres	Niveau de qualité sanitaire des eaux usées traitées			
	A	B	C	D
MES (mg.L ⁻¹)	< 15			
DCO (mg.L ⁻¹)	< 60	Conforme à la réglementation des rejets d'eaux usées traitées pour l'exutoire de la station hors période d'irrigation		
Entérocoques fécaux (abattement en log)	≥ 4	≥ 3	≥ 2	≥ 2
Phages ARN F-spécifiques (abattement en log)	≥ 4	≥ 3	≥ 2	≥ 2
Spoires de bactéries anaérobies sulfitoréductrices (abattement en log)	≥ 4	≥ 3	≥ 2	≥ 2
<i>Escherichia coli</i> (UFC/100ml)	≤ 250	≤ 10 000	≤ 100 000	-

II-2-3 Le traitement tertiaire

Le traitement tertiaire regroupe un certains nombres de techniques qui permettent d'améliorer la qualité des effluents secondaires en diminuant aussi bien les matières en suspension, les contaminants chimiques que les microorganismes pathogènes. Traditionnellement, les traitements tertiaires les plus répandus dans une perspective de réutiliser les eaux usées épurées sont des traitements d'oxydation telle que la chloration, l'ozonation et le rayonnement UVC.

Lors du traitement de chloration, le chlore peut être utilisé sous forme de chlore gazeux (stocké en phase liquide en bouteille ou en tank) ou en solutions concentrées d'hypochlorite

de sodium (eau de Javel à 48°). Deux phases d'inactivation des germes pathogènes se succèdent lors de ce traitement. Une première phase brève pendant laquelle le chlore libre assure l'essentiel de l'élimination des germes. Une seconde phase beaucoup plus longue et d'efficacité réduite au cours de laquelle interviennent les chloramines. La forme la plus désinfectante du chlore est le chlore libre actif (acide hypochloreux, HOCl). Cependant, une désinfection qui viserait à obtenir un résiduel stable d'HOCl n'est pas concevable pour les eaux usées du fait des doses de chlore trop importantes qui seraient nécessaires. Ce sont donc les propriétés germicides des chloramines (dichloramines, monochloramines) qui sont utilisées. Le pouvoir bactéricide du chlore actif est cependant 20 à 30 fois supérieur à celui de la dichloramine, lui-même 3 à 5 fois supérieur à celui de la monochloramine. L'efficacité du système de désinfection par chloration dépend de trois paramètres principaux : la température, le temps de contact et la dose de chlore injectée. Sa capacité a été démontrée pour différents microorganismes tels que *E. coli* (4 log, $t = 40$ min, $\text{Cl}_2 = 7 \text{ mg.L}^{-1}$) [Seux, 1979], les coliformes totaux, et les streptocoques fécaux [Mandrat et al., 1996], *Salmonella* [Legnani et al. 1996], les entérovirus [Berg et al., 1978] et les bactériophages ARN F-spécifiques [Havelaar et Nieuwstad, 1985].

Les propriétés bactéricides et virucides de l'ozone bien connues ont conduit au développement du traitement des eaux potables par ce gaz. L'ozone étant instable, il est produit sur le lieu de consommation par décharges électriques dans des générateurs tubulaires. Cette production est réalisée par un générateur d'ozone, qui est essentiellement composé de deux électrodes conductrices maintenues en regard l'une de l'autre. L'air ou l'oxygène, comprimé puis séché, passe entre ces deux électrodes où il est soumis à un champ de courant alternatif à haute tension. Une partie de l'oxygène se transforme alors en ozone. Le gaz ozoné, une fois mis en contact avec l'effluent à désinfecter, se dissout et va, d'une part, oxyder de nombreux cations métalliques et halogénures et d'autre part réagir avec les matières organiques (ex. protéines membranaires des microorganismes) pour former les ozonides. Des essais de désinfection par l'ozone réalisés en laboratoire sur des effluents secondaires ont montré que la dose d'ozone à utiliser pour obtenir un abaissement de 4 log des coliformes totaux varie inversement au temps de contact. Cette dose dépend en grande partie du procédé de mise en contact de l'air ozoné avec l'eau traitée et de sa qualité physico-chimique [Seux, 1979]. D'autres études réalisées sur des coliformes totaux, coliformes fécaux et streptocoques fécaux démontrent des ordres de grandeurs d'abattement par ozonation de 3 à 6 log [Rosen et al., 1975 ; Seux, 1979 ; Legnani et al., 1996 ; Mandra et al., 1996].

La technologie par rayonnement UV est couramment employée en désinfection des eaux résiduaires épurées. Les rayonnements UV sont des ondes électromagnétiques de longueur d'onde comprise entre 100 nm et 400 nm. Ce sont les UVC, compris entre 200 nm et 280 nm qui sont les plus puissamment germicides. La longueur d'onde la plus couramment utilisée est égale à 254 nm. Les rayonnements UVC sont émis par des lampes à vapeur de mercure, soit à basse pression (petites lampes de 100 W à spectre d'émission court vers 250 nm et d'une durée de vie d'environ 3500 h), soit à haute pression (lampes de 200 W avec spectre d'émission large compris entre 210 et 300 nm et d'une durée de vie d'environ 7000 à 8000 h). L'effluent passe en fine lame dans une chambre de contact soumis à ce rayonnement. Pour assurer une désinfection satisfaisante en permanence, l'appareil doit fournir une dose de rayonnement UV minimale de 16 mW/cm^2 au point le plus éloigné de la chambre de contact, quels que soient le débit entrant et la qualité de l'eau à traiter [Dupontreue, 1989]. L'efficacité des rayonnements UV est fonction de la quantité (ou de la dose) d'énergie absorbée par les microorganismes. Cette dose est définie par le produit de l'intensité UV (flux d'énergie) par le temps d'exposition des germes aux rayonnements (soit en première approximation le rapport entre le débit de passage de l'effluent secondaire à traiter et le volume de la chambre d'irradiation). De nombreux auteurs mentionnent des abattements importants vis-à-vis du traitement UVC : en *Salmonella* (2-4 log) [Dizer et al., 1993] et en bactéries indicateurs de contamination fécale: *E. coli* (3-5 log) [Baron et al., 1995], Coliformes totaux et fécaux (2.5-4 log) [Mandra et al., 1996], Entérocoques (1-4 log) [Baron et al., 1995].

Le procédé de désinfection par rayonnement UVC, en plus d'être performant, présente plusieurs avantages: il ne fait intervenir ni stockage, ni dosage, ni manipulation de produits chimiques. C'est un procédé compact qui ne modifie pas les caractéristiques physico-chimiques de l'effluent et ne génère pas de sous-produit toxique.

Quoique ces procédés de traitement tertiaires démontrent de hautes performances vis-à-vis de la désinfection des microorganismes, il n'en demeure pas moins qu'ils présentent des inconvénients pouvant remettre en question leur utilisation future. En effet, le chlore a une activité bactéricide prouvée, mais reste en réalité assez complexe à optimiser et présente des risques liés au transport, au stockage et à la manipulation des produits. De plus, en raison de la présence de la matière organique naturelle dans l'eau, la chloration est susceptible de former des sous-produits cancérigènes (les trihalométhanes (THM)) pouvant être générés lors du processus de désinfection [Bond et al., 2011]. L'ozonation cause aussi la génération de

sous-produits toxiques [Huang et al., 2005] et est sensible aux composés organiques contenus dans les matières en suspension de l'effluent, ce qui nécessite une filtration préalable avant l'étape de désinfection. De plus, ce type de procédé présente des coûts d'installation et de fonctionnement élevés (0,56 Euros/m³): 2 à 3 fois supérieurs à ceux d'un traitement par chloration [Mahdi Ahmed, 2014]. Quant à l'utilisation des UVC, le processus ne génère pas de sous-produits toxiques. Cependant, il est souvent limité par la présence de matière en suspension dans l'effluent, de la durée de vie et de la maintenance des lampes UV ainsi que du coût énergétique de fonctionnement.

Avec pour objectif d'améliorer la qualité microbiologique des effluents secondaires et dans une perspective de développement durable, de nouveaux procédés tertiaires ont vu le jour : les procédés d'oxydation avancée (POA). Parmi ces procédés, une technique semble donner des résultats probants, la photocatalyse hétérogène.

III- La photocatalyse hétérogène : un procédé d'oxydation avancée (POA)

III-1 Généralité sur les POA

Les procédés d'oxydation avancée, dont fait partie la photocatalyse hétérogène, fonctionnent à température et pression proches des conditions ambiantes [Galze et al., 1987]. Ces procédés mettent en œuvre un processus d'activation chimique, catalytique, ou photochimique pour produire des radicaux à partir du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), de l'oxygène (O₂) ou d'un photocatalyseur solide. Ces mécanismes induisent la formation d'espèces fortement oxydantes telles que les radicaux hydroxyles (OH°). La production de ces espèces radicalaires extrêmement oxydantes et réactives, permet d'atteindre des niveaux d'oxydation poussés supérieures à ceux des oxydants traditionnels, tels que Cl₂ ou ClO₂ [Zhou et Smith, 2001 ; Suty et al., 2003]. Les radicaux hydroxyles sont caractérisés par une durée de vie très courte (de l'ordre de nanosecondes) et une faible sélectivité, dans la mesure où ils s'attaquent à toutes liaisons organiques. Ces atouts sont importants pour le traitement des eaux résiduares. Par ailleurs, l'adaptation des procédés d'oxydation avancée au traitement des eaux est favorisée par la diversité des moyens de production des radicaux OH°. Ceci permet une meilleure conformité aux conditions spécifiques de traitement. Les techniques de production des espèces radicalaires peuvent être regroupées en quatre catégories : i) procédés

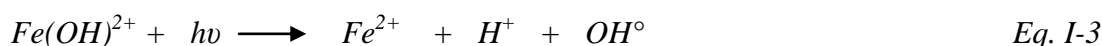
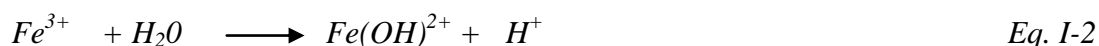
d'oxydation chimique en phase homogène (H_2O_2/Fe^{2+} et H_2O_2/O_3 , H_2O/UV , H_2O_2/UV); ii) procédés photocatalytiques en phase hétérogène ($Fe^{2+}/H_2O_2/UV$ et TiO_2/UV); iii) procédés d'oxydation sonochimique et iv) procédés d'oxydation électrochimique.

Le procédé H_2O_2/Fe^{2+} , appelé procédé Fenton, produit des radicaux hydroxyles via l'utilisation de deux réactifs que sont le peroxyde d'hydrogène (appelé couramment eau oxygénée) et les ions ferreux Fe^{2+} (Equation I-1).



Ces radicaux (OH^\bullet) formés vont être à l'origine de réactions d'oxydoréductions classiques, nécessaires pour la dégradation des polluants chimiques et des microorganismes dans l'eau [Rincon et Pulgarin, 2006].

Cette technique a connu des améliorations avec l'ajout d'un rayonnement UV (>300 nm). La réaction obtenue, appelée photo Fenton est ainsi une variante du procédé Fenton. Dans les conditions optimales de pH (≈ 3 et 4), l'ion Fe^{3+} se trouve, en grande partie, sous forme de $Fe(OH)^{2+}$. Cette espèce absorbe le rayonnement UV dans la gamme de longueur d'onde $250 < \lambda < 400$ nm. La réduction photochimique du composé $Fe(OH)^{2+}$ en milieu aqueux permet par la suite de produire des radicaux OH^\bullet supplémentaires mais aussi, de catalyser la réaction de Fenton par la régénération de l'ion Fe^{2+} (Equations I-2, I-3 et I-4).



L'efficacité de ce procédé, par exemple, sur la désinfection de la bactérie *Escherichia coli* a été rapportée par Moncayo-Lasso et al. [Moncayo-Lasso et al., 2008, 2009].

Dans le procédé couplant H_2O_2 / UV , les radiations UV de longueurs d'onde comprises entre 200 à 280 nm induisent la décomposition de H_2O_2 . Cette décomposition génère les radicaux hydroxyles (formations de deux OH^\bullet par photon absorbé $h\nu$) [Legrini et al., 1993] (Equation I-5).



Ce procédé est très dépendant du pH. Au cours du processus de formation des radicaux hydroxyles, une partie du rayonnement UV est susceptible d'être absorbée par les composés organiques naturellement présents dans l'eau. Ce processus peut ralentir la transformation du peroxyde en radicaux. L'ajout du peroxyde d'hydrogène en présence du rayonnement UV a été rapporté par Mamane et al.. Il est apparu que l'efficacité de ce procédé est comparable à celle du rayonnement UV seul (photolyse) [Mamane et al., 2007].

Le procédé O₃/UV (ozonolyse) est un procédé d'oxydation avancée utilisé largement dans le traitement des eaux potables. Le couplage O₃/UV permet de produire des radicaux hydroxyles par plusieurs voies (Equations I-6, I-7, I-8).



Le spectre d'absorption de l'ozone présente un maximum à 254 nm avec un coefficient d'absorption molaire ($\epsilon_{O_3} = 3600 \text{ L.mol}^{-1}.\text{cm}^{-1}$) plus élevé que celui du peroxyde d'hydrogène à la même longueur d'onde. Ce procédé est finalement un couplage du procédé classique d'ozonation et de H₂O₂ / UV. Cependant, il est difficile de comparer ces différentes méthodes d'oxydation tant les paramètres optimaux sont différents pour chaque procédé, que ce soit pour la longueur d'onde du rayonnement UV, la concentration en catalyseurs ou le pH.

III-2 Principe de la photocatalyse hétérogène

On désigne par la photocatalyse hétérogène l'accélération d'une réaction photo-induite en présence d'un catalyseur. De manière schématique, l'irradiation d'un semi-conducteur (ex. TiO₂) par un rayonnement suffisamment énergétique engendre des modifications électroniques (photo-excitations) au niveau du semi-conducteur. Ces photo-excitations permettent la formation de paires électrons/trous qui s'associent en surface du catalyseur avec

des molécules contenues dans l'eau. Cette association forme des radicaux qui initient des réactions radicalaires. Les espèces radicalaires générées, telles que les radicaux hydroxyles (OH^\bullet) vont dégrader les molécules polluantes afin de produire au final du CO_2 , de l'eau et des acides inorganiques: on parle de minéralisation des espèces organiques.

Les premières études qui ont mis en évidence le potentiel du procédé de photocatalyse hétérogène pour la purification de l'eau, lorsqu'il est soumis à une irradiation UV, remontent à 1970 [Frank, 1977]. Dès lors, la photocatalyse devient une des techniques d'oxydation avancée les plus étudiées pour le traitement d'effluents liquides ou gazeux non-biodégradables. De nombreuses recherches sont ainsi effectuées sur l'amélioration des propriétés et le développement de médias photocatalytiques [Blake, 2001]. Ensuite, dans une logique de développement durable, les travaux de recherche se sont portés progressivement vers l'utilisation de l'énergie solaire comme source de rayonnement UV [Blanco, 2003, Malato et al., 2009]. Le nombre croissant de publications rapportant l'utilisation du rayonnement solaire (Figure I-5) montre que l'utilisation de cette ressource prend une place prépondérante dans la conduite des procédés, s'appliquant aussi bien pour le traitement de l'eau que le traitement de l'air [Furman et al., 2007].

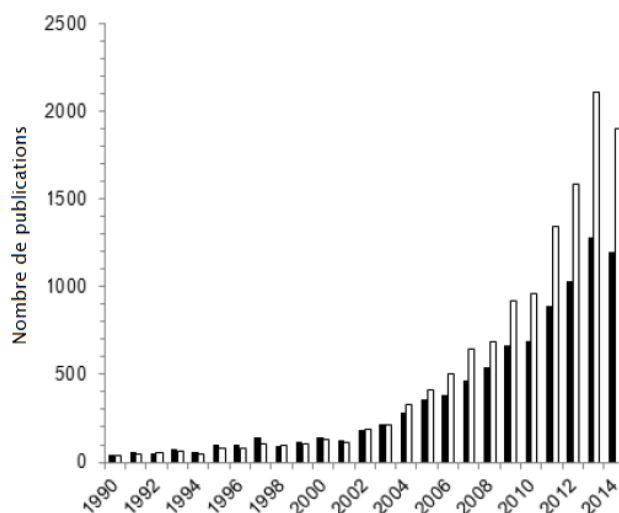


Figure I- 5: Nombre de publications scientifiques (mots clefs : *Heterogeneous photocatalysis* (■), *Solar photocatalysis* (□)) [Plantard, 2014].

III-3 Mécanismes de la photocatalyse hétérogène

La photocatalyse hétérogène est une technologie basée sur l'irradiation d'un catalyseur, en général un semi-conducteur. La réaction de photocatalyse correspond au schéma du principe

présenté dans la figure I-6. Pour que la photo-excitation ait lieu, il faut que les photons absorbés par le semi-conducteur possèdent une énergie supérieure au gap d'énergie entre sa bande de valence (BV) et sa bande de conduction (BC). Des paires d'électron-trou se créent alors dans le volume du catalyseur [Mills, 1997 ; Zaviska et al., 2009]. Les charges migrent ensuite en surface. Ces paires migrent pour donner en surface des électro-donneurs ou électro-accepteurs d'électrons qui initient les réactions d'oxydoréduction [Shiragami, 1989, Gerrischer, 1992].

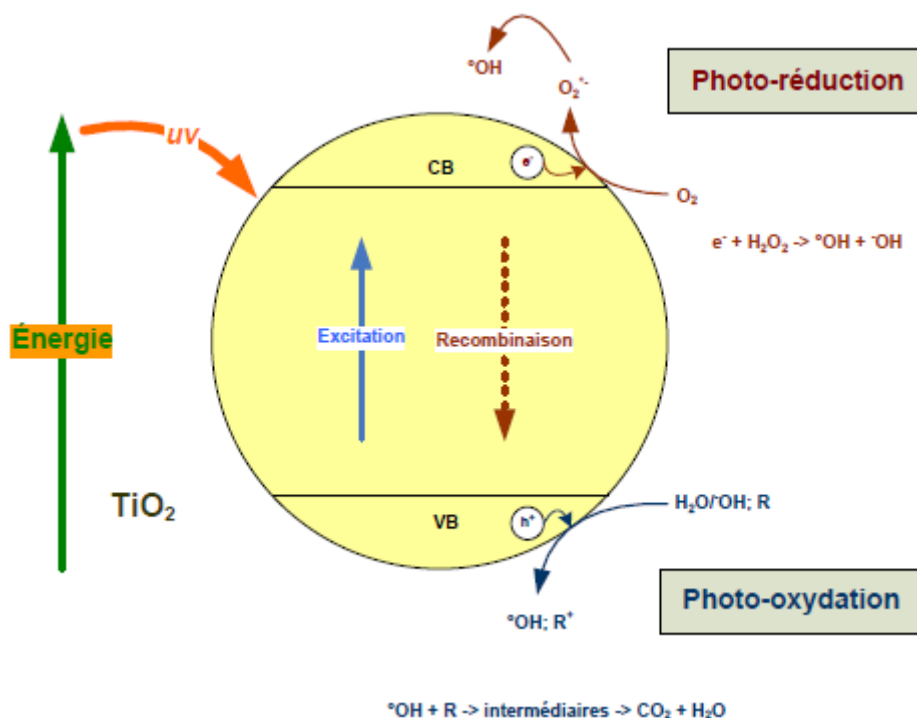


Figure I- 6: Principe de la photocatalyse sur une nanocristallite de TiO_2 [Zaviska et al., 2009].

Les paires électron-trou peuvent se recombiner ou migrer à la surface du semi-conducteur [Minero et Vione, 2006] pour réagir avec les espèces adsorbées. On distingue les donneurs et les accepteurs d'électrons qui vont respectivement s'associer avec les trous et les électrons [Shiragami et al., 1989, Gerischer et Heller, 1992]. Dans le cas spécifique d'une réaction photocatalytique ayant lieu dans un milieu liquide et en présence d'oxygène, les trous réagissent avec des donneurs d'électrons (tels que l'eau, les anions (OH^-) et les produits organiques P adsorbés à la surface du semi-conducteur) suivant les équations I-9, I-10 et I-11.





En parallèle, les électrons réagissent avec des accepteurs d'électrons, tel que l'oxygène dissous, pour former des radicaux superoxydes suivant l'équation I-12.



Au vue de ces réactions, il apparaît que l'O₂ est un élément primordial dans le processus photocatalytique, dans la mesure où il peut limiter le phénomène de recombinaison des charges. Par ailleurs, la localisation du processus photocatalytique fait à ce jour un débat entre les spécialistes. La plus part des études admettent que la réaction photocatalytique a lieu sur la surface du semi-conducteur [Shiragami et al., 1989, Gerischer et Heller, 1992]. Toutefois, d'autres travaux mettent en évidence la diffusion des radicaux générés et suggèrent que le processus est susceptible de se réaliser aussi bien sur la surface du semi-conducteur que dans son voisinage très proche [Parra et al., 2002].

De manière plus globale, pour que le processus de dégradation des polluants ou des agents pathogène ait lieu, il est nécessaire que les éléments interagissent. Ainsi, la réaction photocatalytique hétérogène, comme la plupart des processus catalytique polyphasique, se décompose en cinq étapes. La première étape est le transfert du contaminant (e.g. microorganisme) de la phase liquide (ou gazeuse) vers la surface du semi-conducteur à travers la couche limite. Cette étape est préalable à la réaction catalytique. Elle exprime le transport d'un composé d'une région où il se trouve en forte concentration vers une région où il se trouve en faible concentration. Le gradient de concentration est le moteur de cette étape, qui est caractérisée par un coefficient de transfert de matière. La deuxième étape est l'adsorption (adhésion). Elle décrit le processus d'adsorption du polluant [Guillot et Stoeckli, 2002] ou d'adhésion du microorganisme [Pablos et al., 2013] à la surface du semi-conducteur. L'étape suivante est la réaction photocatalytique. Le phénomène d'excitation du catalyseur sous irradiation va entraîner la production d'espèces oxydantes. Ces espèces réactives vont dégrader les cibles adsorbées (adhérées) à proximité. Les vitesses de réaction entre les radicaux et les composés organiques sont très rapides (10⁶-10¹⁰ mol⁻¹.L.s⁻¹) [Buxton et al.,

1988]. La réaction d'oxydation génère ensuite la formation de sous-produits de réaction. Ces produits intermédiaires peuvent être dégradés jusqu'à la minéralisation complète de la matière carbonée: c'est-à-dire le rejet de dioxyde de carbone et d'eau uniquement. Il est à noter aussi, que le mode de fixation (physisorption ou chimisorption) conditionne la réversibilité du processus d'adsorption de ces composés et peut donc ralentir la cinétique de dégradation [Friedmann et al., 2010]. Une fois le contaminant principal dégradé, les sous-produits ou les résidus minéralisés sont désorbés de la phase solide puis transférés vers la phase liquide. Cette désorption est générée soit par la rupture de liaisons libérant les produits intermédiaires, soit par le biais de compétition et d'affinité préférentielle avec les molécules.

III-4 Le semi-conducteur TiO_2

Il existe de nombreux supports catalytiques. Le TiO_2 est le semi-conducteur le plus souvent utilisé pour des applications environnementales et dans les activités scientifiques [Malato et al., 2009]. Cela se justifie par son abondance, sa stabilité chimique qui le rend faiblement toxique ainsi que ses propriétés physico-chimiques et de structure. Cet oxyde métallique est aisément productible à partir de minerais d'ilménite (FeOTiO_2) et de rutil (TiO_2) [Lu et al., 2011]. Le TiO_2 se présente sous différentes formes allotropiques ou polymorphiques (Figure I-7) dont les principales phases utilisées en photocatalyse sont l'anatase et le rutil.

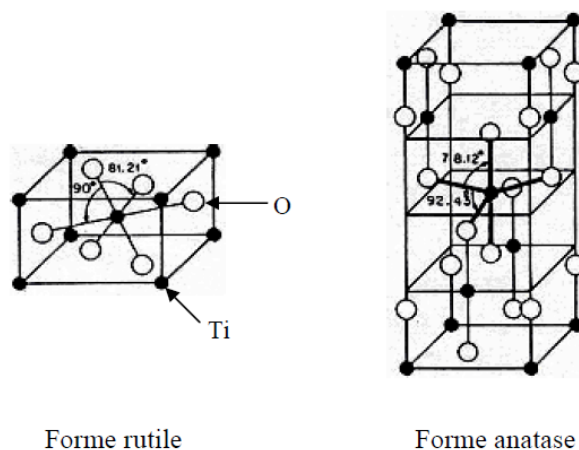


Figure I- 7: Mailles élémentaires des deux formes allotropiques du TiO_2 les plus courantes: rutil et anatase [Augustynski , 1993].

La structure cristalline du TiO_2 se compose d'une unité de base qui est un octaèdre de formule TiO_6^{2-} avec en son centre un atome de titane. Sous sa forme anatase, il est activé par le rayonnement UV ($\lambda = 388 \text{ nm}$). Le rutil et l'anatase ont le même système cristallin

quadratique, mais ils diffèrent par l'arrangement des octaèdres et leur distorsion, ce qui influence leurs structures électroniques [Le Roux et Glasser, 1997]. En effet, la largeur de la bande interdite du rutile est de 3 eV et celle de l'anatase est de 3.2 eV. Il est alors possible, à partir de ces valeurs, de calculer la longueur d'onde maximale d'excitation du semi-conducteur via la relation de Planck (Equation I-13).

$$\text{Largeur}_{(bande\ interdite)} = \frac{hc}{\lambda} \quad \text{Eq. I-13}$$

Où, h est la constante de planck égale à $4,13 \cdot 10^{-15}$ eV, C ($m\ s^{-1}$) est la vitesse de la lumière et λ (m) est la longueur d'onde maximale d'excitation. Soit $\lambda = 388$ nm pour l'anatase et $\lambda = 413$ nm pour le rutile.

Cela signifie que seuls les photons de longueur d'onde inférieure ou égale à 413 nm sont susceptibles d'exciter le semi-conducteur, ce qui correspond au spectre du rayonnement UV. D'autres semi-conducteurs utilisés en photocatalyse possèdent un gap et par suite des longueurs d'onde d'excitation différentes (Tableau I-5).

Tableau I- 5: Energies de bande interdite et longueurs d'onde d'activation de différents semi-conducteurs [Malato et al., 1999].

Semi-conducteurs	BaTiO ₃	CdO	CdS	CdSe	Fe ₂ O ₃	GaAs	SnO ₂	SrTiO ₃	TiO ₂	ZnO	ZnS
Energie de Bande interdite (eV)	3.3	2.1	2.5	1.7	2.2	1.4	3.9	3.4	3.2	3.2	3.7
Longueur d'onde (nm)	375	590	497	730	565	887	318	365	390	390	336

Par ailleurs, en comparant l'activité photocatalytique de l'anatase et du rutile, il a été démontré que la vitesse de recombinaison des paires de trous photogénérées (e^-/h^+) est plus élevée pour le rutile que pour l'anatase [Schindler et Kunst, 1990]. L'anatase présente également une forme plus photoactive. Cette activité est due à sa grande aptitude à désorber l'oxygène et adsorber les formes O_2^- et $O^{\circ-}$ [Sclafani et Herrmann, 1996]. Toutefois, certaines études ont démontré qu'un mélange de rutile (20%) et d'anatase (80%), induisait une photoactivité plus importante que chaque forme utilisée seule [Rincon et Pulgarin, 2003 ; Agustina

et al., 2005]. Ceci est rendu à une synergie entre les deux formes qui est susceptible de limiter les phénomènes de recombinaison des paires électrons trous (e^-/h^+) photogénérées.

III-5 Paramètres physico-chimiques influençant la photocatalyse hétérogène

Dans le cas spécifique d'une réaction photocatalytique ayant lieu dans un milieu liquide, l'efficacité photocatalytique est dépendante de plusieurs facteurs, tels que la masse de catalyseur et sa mise en forme, la densité du flux photonique incident et la composition de l'effluent à traiter [Herrmann, 1999].

III-5-1 Influence de la concentration et de la mise en forme du catalyseur

Le choix du catalyseur est un des éléments primordiaux pour le dimensionnement d'un procédé de photocatalyse. Les procédés de photocatalyse en suspension permettent une distribution homogène du catalyseur dans tout le volume du réacteur, développant une surface spécifique importante. La faible taille des particules de TiO_2 (généralement de l'ordre de quelques dizaines de nanomètres) favorise le transfert de la matière vers les sites photocatalytiques. Pour un catalyseur en suspension, la vitesse de dégradation est d'autant plus importante que la masse de catalyseur augmente [Herman, 1999, Plantard et al. 2011]. Ceci étant, il existe une valeur optimale de concentration en TiO_2 pour laquelle le catalyseur absorbe la totalité des photons entrant dans le réacteur et par conséquent la vitesse de la réaction se stabilise. Cette limite dépend de la géométrie du photoréacteur. Une quantité trop importante (supérieure à la valeur optimale) engendrera une diminution du ratio entre le nombre de molécules dégradées et la masse de catalyseur. Cela signifiera qu'une certaine masse de catalyseur ne sera alors plus utile. Ainsi, une quantité optimale pour laquelle toutes les particules sont accessibles au rayonnement UV est à définir pour chaque type de TiO_2 en poudre et pour chaque géométrie de réacteur. Parmi toutes les études réalisées sur l'influence de la masse de catalyseur aussi bien pour la dégradation des molécules [Assabane et al., 2000 ; Correia et al., 2011] que pour la désinfection des microorganismes [Pal et al., 2005], il ressort que la radiation incidente et le chemin optique à l'intérieur du réacteur sont les deux paramètres fondamentaux pour trouver cet optimum.

L'emploi d'un catalyseur en poudre nécessite la présence d'un système de séparation en aval du procédé, afin de récupérer le catalyseur. Le développement de catalyseurs supportés a ainsi

permis de s'affranchir du problème du post-traitement de séparation. Cependant, l'utilisation d'un support limite les transferts de matière et surtout les transferts de rayonnement au sein du volume réactionnel [Goetz et al., 2009, plantard et Goetz, 2014]. Pour optimiser les performances de ces supports, les trois paramètres principaux à prendre en compte sont le taux de recouvrement en TiO_2 , la géométrie du support et les propriétés physico-chimiques du dépôt. Concernant la géométrie, des médias en deux dimensions et en trois dimensions ont été développés et étudiés [Plantard et al., 2011 ; Elatmani et al., 2013 ; Plantard et Goetz, 2014]. Plusieurs supports plans ou 2D ont été testés tels que les fibres cellulosiques [Barka et al., 2008 ; Correia et al., 2011] et l'acier inoxydable [Shang et al., 2003]. La société Ahlstrom a commercialisé également un média 2D, constitué de TiO_2 en poudre (PC500) fixée mécaniquement par un gel de silice sur une matrice cellulosique inerte. La configuration d'un support en 3D permet d'augmenter la surface irradiée. Les supports sont variés : billes de verres [Yu et al., 2002], carbone activé [Li Puma et al., 2008] et mousses [Ochuma et al., 2007 ; Plesh et al., 2009 ; Plantard et al., 2011 ; Kouamé et al., 2013].

III-5-2 Influence du flux photonique incident

L'irradiation est la source d'énergie à l'origine de la photocatalyse. La littérature met en évidence trois régimes de dépendance de la cinétique par rapport à la densité de flux lumineux (Figure I-8) [Ollis et al., 1991 ; Herrmann, 1995 ; Modestov et al., 1998]. Herrmann montre l'existence d'un premier domaine d'irradiation où la cinétique est directement proportionnelle à l'irradiation. Ceci peut se traduire par une production d'espèce radicalaire directement proportionnelle à l'intensité lumineuse. Cependant au-delà d'un certain seuil, dont la valeur est dépendante de la géométrie du réacteur et de la forme du catalyseur, la cinétique observée expérimentalement devient proportionnelle à $I^{1/2}$. Pour des densités de flux très importantes, la vitesse de dégradation devient alors indépendante de I et dépend uniquement du transfert de masse.

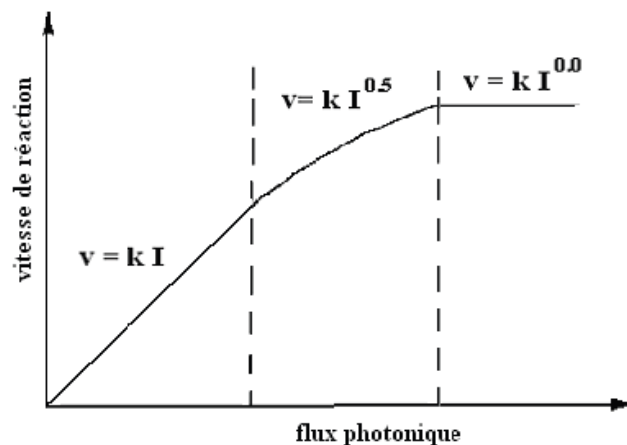


Figure I- 8: Influence du flux lumineux sur la vitesse de la réaction photocatalytique [Herrmann, 1995].

III-5-3 Influence de la composition du milieu aqueux

En 1993, Herrmann a mis en avant que l'efficacité d'un traitement photocatalytique est idéale dans de l'eau déminéralisée [Herrmann et al., 1993]. En effet, la présence de minéraux sous formes d'anions ou cations (SO_4^{2-} , HCO_3^- , Ca^{2+} , Na^+ et Mg^{2+}), étant donné leurs caractères électrostatiques attractifs ou répulsifs, avait pour effet de limiter l'adsorption des polluants cibles à la surface du catalyseur et donc de freiner la vitesse de la réaction photocatalytique. Dans d'autres études [Bekbölet et Balcioglu, 1996], il a été rapporté que certains anions tels que les bicarbonates (HCO_3^-) pouvait piéger des espèces réactives comme les radicaux hydroxyles OH° , ce qui engendre des carbonates ($\text{CO}_3^{\circ-}$) à caractères moins actifs. Dans ce contexte, Rincon et pulgarin ont étudié l'effet de l'ajout de substances organiques et inorganiques sur le traitement photocatalytique d'*E. coli* K12 en utilisant le TiO_2 . Cette étude a démontré que l'ajout, même en faible quantité ($0,2 \text{ mmol.L}^{-1}$), de substances tels que HCO_3^- , HPO_4^{2-} , Cl^- , NO_3^- et SO_4^{2-} freinait significativement le taux d'inactivation bactérienne [Rincon et pulgarin, 2004].

III-6 Application de la photocatalyse hétérogène à la désinfection dans l'eau

III-6-1 Les études sur la désinfection

La désinfection des eaux par la photocatalyse hétérogène a été largement rapportée au cours des 25 dernières années [Pichat, 1994 ; Hoffmann, 1995 ; Sauer et Ollis, 1996 ; Mills, 1997 ; Pichat et al. 2000 ; Malato et al., 2007 ; Sichel et al., 2007 ; Pigeot-Rémy et al. 2011 ; Kacem

et al., 2014]. Depuis 1985, date où Matsunaga a décrit la première application photocatalytique pour la désinfection des trois espèces bactériennes *Lactobacillus acidophilus*, *Saccharomyces cerevisiae* et *E. coli* [Matsunaga et al., 1985], différentes investigations sur le processus de désinfection par photocatalyse de bactéries [Herrera Melian et al., 2000 ; Ibanez et al., 2003 ; Kim et al., 2003], de virus [Matsunaga et al., 1985 ; Watts et al., 1995], d'algues [Cornish et al., 2000] et de champignons [Kuhn et al., 2003] ont été réalisées. A travers ces travaux, un certain nombre de paramètres clefs dans l'optimisation du procédé ont été étudiés. On retrouve les paramètres classiques d'optimisation d'un procédé photocatalytique, à savoir la quantité de media photocatalytique, les propriétés du rayonnement (plage spectrale, nature directe/diffuse) et en particulier la densité de flux lumineuse [Wei et al., 1994 ; Watts et al., 1995 ; Robertson et al., 2005], mais également des paramètres liés aux propriétés du milieu [Van Grieken et al., 2009] et à la nature du microorganisme à traiter [Gill et McLoughlin, 2007].

La majorité de ces travaux ont été réalisés en utilisant le catalyseur TiO₂ [Malato et al., 2009]. Le catalyseur est utilisé aussi bien en suspension que sous sa forme supportée. Par exemple, Wei et al. ont rapporté la destruction de 10⁸ cellules/ml d'*E. coli* suite à un traitement photocatalytique sous irradiation artificielle et utilisant le Degussa P25 en suspension [Wei et al., 1994]. Il a été démontré, que la viabilité cellulaire diminue en fonction de la dose de catalyseur. Elle est directement proportionnelle à la densité de flux d'irradiation dans une gamme allant de 180 à 1660 µE/s/m². Ces résultats concordent bien avec ceux trouvés par Kim et al. [Kim et al., 2003]. Ces derniers ont étudié l'utilisation du TiO₂ en suspension pour la désinfection de bactéries pathogènes telles que *Salmonella enterica*, *Vibrio parahaemolyticus* et *Listeria monocytogenes*. Parmi ces espèces, *S. enterica* a été la plus vulnérable au traitement photocatalytique. Cette étude a mis en avant l'interdépendance entre le taux de destruction des bactéries, le temps d'irradiation et la concentration en catalyseur.

D'autres travaux ont porté sur la possibilité d'améliorer les performances du procédé de traitement. Rincon et al. ont étudié l'effet d'ajout d'additifs sur le processus de désinfection d'*E. coli* par le TiO₂ Degussa P25 en suspension [Rincon et al., 2004]. Les auteurs ont démontré que l'addition de H₂O₂ avait un effet positif sur l'inactivation de la bactérie aussi bien dans des conditions photolytiques que photocatalytiques. L'ajout d'ions inorganiques tels que HCO₃⁻, HPO₄²⁻, Cl⁻, NO₃⁻ et SO₄²⁻ à la suspension bactérienne a également été étudié. Cependant, ces composés semblent inhiber la réaction photocatalytique. Ces résultats

montrent que le processus photocatalytique et donc l'efficacité de désinfection dépend de la composition du milieu à traiter. Pour approfondir cet aspect, Wist et al. ont rapporté la désinfection de la bactérie *E. coli* dans de l'eau distillée et de l'eau de rivière [Wist et al., 2002]. Lorsque le milieu est de l'eau distillée, aucune évolution de la population bactérienne n'a été observée après 24h du traitement. Par contre dans les mêmes conditions, une croissance significative a été obtenue dans l'eau de rivière. Le développement de bactéries dans l'eau de rivière semble être dû aux conditions favorables naturellement existantes dans cette eau (nutriment, température, pH, etc). Des études ont aussi ciblé les possibilités de traitement dans des conditions dites 'réelles' à savoir la désinfection des eaux usées pour une application/réutilisation. Par exemple, Watts et al. ont étudié la désinfection par photocatalyse hétérogène d'une bactérie coliforme (5.10^7 UFC.mL⁻¹) et d'un polio virus (3.10^3 UFP.mL⁻¹) dans un effluent secondaire en sortie de station d'épuration [Watts et al., 1995]. Les expérimentations photocatalytiques, réalisées avec du TiO₂ en suspension et sous irradiation artificielle, ont démontré une inactivation de 2 log du polio virus après 30 min de traitement et un taux d'abattement similaire en bactéries après 150 min. Ce résultat montre que l'efficacité de désinfection par photocatalyse est dépendante de la nature du microorganisme à traiter. Il met également en avant la complexité d'évaluer la capacité d'un traitement de désinfection dans un effluent réel.

L'utilisation de catalyseur supporté a fait également l'objet de différents travaux, mettant en avant l'effet de la densité du flux lumineux, la forme du support et la nature du catalyseur immobilisé sur les performances bactéricides de la photocatalyse supportée [Kikuchi et al., 1997 ; Huang et al., 1998 ; Rincon et Pulgarin, 2003 ; Sunada et al., 2003]. Par exemple, Sunada et al. ont rapporté une destruction de 4 log de la bactérie *E. coli*, déposée sur un film de TiO₂ puis irradiée à 10 W.m⁻² pendant 80 min [Sunada et al., 2003]. Dans une autre étude, Rincon et Pulgarin ont mis en évidence le pouvoir bactéricide du TiO₂ immobilisé par procédé sol gel sur des membranes de Nafion, puis comparé l'efficacité de ce média à celle du TiO₂ en suspension [Rincon et Pulgarin, 2003]. L'efficacité du média supporté a été surpassée d'un facteur 4 par la suspension. Il a été conclu que l'épaisseur du support est un paramètre déterminant dans l'absorption du rayonnement par le catalyseur et influe sur l'efficacité de désinfection du matériau photocatalytique. Dans une autre étude, Kuhn et al., ont rapporté l'utilisation de plexiglas revêtu de TiO₂ Degussa P25 pour la désinfection d'une série de bactéries comprenant *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *E. faecium* et *C. albicans* [Kuhn et al., 2003]. Le but de cette étude était de classer la résistance de ces microorganismes vis-à-vis du

traitement photocatalytique. En fonction des résistances obtenues (*E. coli* < *P. aeruginosa* < *S. aureus* < *E. faecium* < *C. albicans*), il a été conclu que l'interaction du microorganisme avec le catalyseur est un paramètre déterminant dans le processus de désinfection.

De ces travaux, il ressort que le procédé de photocatalyse hétérogène est efficace pour la désinfection d'une large gamme de microorganismes. A l'heure actuelle, l'effet antimicrobien de la photocatalyse n'est plus à démontrer, que ce soit avec des média catalytiques supportés ou sous la forme de suspension. Par contre, les mécanismes et processus d'action régissant ce phénomène sont insuffisamment connus et maîtrisés. Des questions demeurent, notamment en ce qui *concerne l'importance de l'interaction entre le support catalytique et les espèces cibles et son effet sur le processus de désinfection*. Par ailleurs, *la comparaison des performances de désinfection des médias photocatalytiques*, obtenues dans des conditions opératoires différentes, demeure difficile. Il ressort que les médias, qu'ils soient supportés ou non, développent une capacité de désinfection qui dépend de leur capacité à absorber le flux lumineux émis. Ainsi, pour comparer et optimiser les performances de chaque média, *il s'avère nécessaire de maîtriser leur mise en forme et configuration de manière à utiliser la totalité du rayonnement disponible*.

III-6-2 Vers l'utilisation du rayonnement solaire pour la désinfection des eaux

L'énergie solaire reçue par an à la surface de la terre représente approximativement 15000 fois la consommation d'énergie annuelle mondiale. Une partie du spectre solaire est filtrée par différentes couches atmosphériques (absorbée ou diffusée). Le spectre solaire atteignant la surface de la terre est constitué de trois domaines : le domaine ultraviolet (UV, 200-400 nm), le domaine visible (VIS, 400-700 nm) et le domaine infrarouge (IR, 700-1300 nm). Ils représentent respectivement 5% (50 W.m^{-2}), 40% (400 W.m^{-2}) et 55% (550 W.m^{-2}) du rayonnement atteignant la surface terrestre lorsque les conditions de rayonnement sont très favorables.

L'utilisation du rayonnement solaire en absence de catalyseur (photolyse) s'avère efficace pour la désinfection des microorganismes dans l'eau et s'inscrit parfaitement dans une perspective de développement durable. La première application réussie de la désinfection des eaux par rayonnement solaire (SODIS) a été publiée par Acra et al. dans le cadre d'un programme de contrôle maladies, entrepris par l'organisation mondiale de la santé [Acra et

al., 1980]. Au cours de cette étude, les auteurs ont mis en évidence l'inactivation de bactéries entériques au bout de 6 heures d'exposition sous le soleil. Les temps d'inactivation d'autres microorganismes sous une densité d'irradiation solaire globale de 1000 W.m^{-2} ont également été rapportés, tels que, *Escherichia coli* (1.5h), *Cryptosporidium parvum* (8h) et le polio virus (6h) [Malato et al., 2009]. A travers ces travaux, il s'avère que la désinfection par voie solaire est efficace pour le traitement d'une multitude de microorganismes. Néanmoins, les temps de traitements restent relativement longs pour une application à plus grande échelle. Afin d'amplifier les performances de la désinfection par rayonnement solaire et dans l'optique de développer un procédé propre, différents efforts ont été fournis pour mettre en œuvre un procédé photocatalytique utilisant le rayonnement solaire comme source d'UV. [Zhang et al., 1994 ; Rincon et Pulgarin, 2004 ; Lonnen et al., 2005 ; Mendez-Hermida, 2007 ; Malato et al., 2009]. Ces études permettent de retrouver l'effet de paramètres conventionnels qui influent sur le procédé photocatalytique (dose de catalyseur, densité de flux d'irradiation solaire) [Malato et al., 2009]. On retrouve également, l'influence d'autres facteurs liés à la ressource solaire, tels que l'effet de la nature du rayonnement [Byrne et al., 2011] ou l'effet synergique de la température et de la réaction photocatalytique [Wegelin et al., 1993]. Concernant ce dernier aspect en particulier, il a été démontré que seule une température au delà de 50°C pouvait accélérer significativement le processus photocatalytique d'inactivation bactérienne.

Dans les conditions de rayonnement les plus favorables, la performance de désinfection de la photocatalyse hétérogène solaire est globalement comparable à celle obtenues dans des conditions artificielles [Gelover et al., 2006]. Néanmoins, comme tout autre procédé de traitement, cette technologie fait face à des défis qui semblent limiter son utilisation à une échelle plus importante. En effet, les catalyseurs développés et produits actuellement sont principalement photosensibles au rayonnement UV. Il ressort de certaines études que la photoactivation provient à 95% du rayonnement des UVA (315 à 400 nm). Dans le cas particulier du TiO_2 (catalyseur de référence), cette gamme spectrale utilisable pour photoexciter le semiconducteur représente approximativement 5% du spectre solaire [Janin, 2011]. Ceci constitue une véritable limitation dans l'utilisation du rayonnement solaire. De ce fait, de nombreux travaux ont été entrepris afin d'améliorer l'efficacité des photocatalyseurs sous rayonnement visible de façon à avoir un plus large réservoir de charges [Sun et al., 2008 ; Grabowska et al., 2009]. Afin d'augmenter la part de rayonnement capté et utile pour la photocatalyse, deux approches complémentaires ont été développées. La première envisage d'améliorer les propriétés intrinsèques du semiconducteur en le dopant par exemple avec

d'autres matériaux afin de le rendre plus photosensible à une plus large gamme spectrale [Agrios et Pichat, 2005]. La deuxième est l'optimisation de la mise en forme du catalyseur afin de maximiser la captation du rayonnement [Plantard et Goetz, 2014].

III-7 Mécanismes de la désinfection par photocatalyse hétérogène

La réaction de photocatalyse hétérogène est une réaction photo induite par un rayonnement UV incident. La désinfection peut avoir lieu donc aussi bien par effet photolytique que photocatalytique.

III-7-1 Effet photolytique

La gamme des UV, est composée des UVA (320 nm à 400 nm), les UVB (280 nm à 320 nm) et les UVC (100 nm à 280 nm). Les multiples effets bactéricides causés par le rayonnement UV en fonction de la longueur d'onde appliquée sont résumés dans la figure I-9.

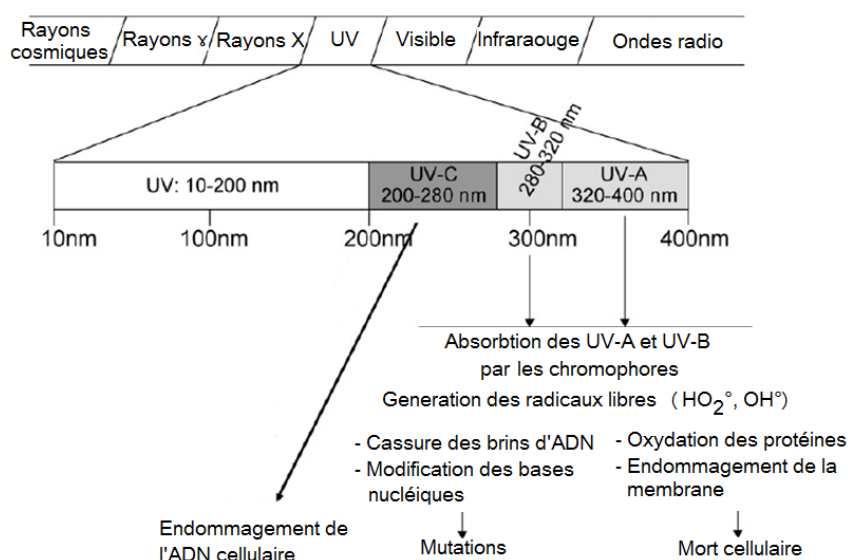


Figure I- 9: Dommages provoqués par les radiations UV sur les cellules microbiennes [Malato et al., 2009].

Les rayonnements UVC sont connus pour induire de multiples dommages au niveau de l'ADN, via la dimérisation des pyrimidines et des purines [Malato et al., 2009]. Ce sont des rayonnements génotoxiques. Les rayonnements UVB induisent des effets létaux et mutagènes, tels que l'endommagement des lipides constituant la paroi cellulaire [Santos et al., 2013].

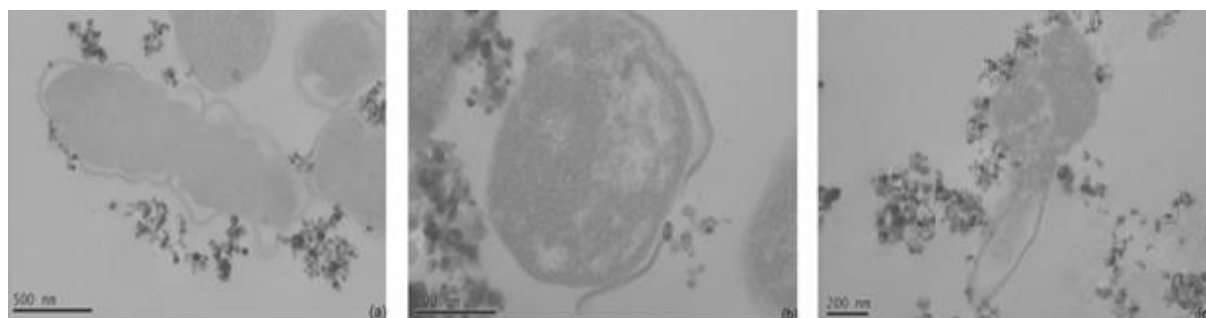
Enfin, les rayonnements UV-A sont décrits comme également létaux au matériel génétique formant des dimères de pyrimidine [Tyrell, 1973]. Ce type de rayonnement cause également des dommages oxydatifs au niveau des lipides des membranes cellulaires ainsi qu'une carbonylation des protéines [Bosshard et al., 2010 ; Santos et al., 2013]. Il inhibe ainsi le métabolisme respiratoire des microorganismes.

III-7-2 Effet photocatalytique

Les premiers travaux consacrés à l'étude du mécanisme de désinfection par photocatalyse ont été rapportés par Matsunaga et al. [Matsunaga et al., 1985]. L'étude, réalisée sur la levure *S. cerevisia*, démontre que la Coenzyme A (CoA), impliquée dans une variété de réactions biochimiques du microorganisme, est oxydée par l'effet des radicaux OH° . Cette action inhibe l'activité respiratoire de la levure conduisant à son inactivation. Dans une autre étude, Saito et al. ont mis en évidence une excrétion rapide d'ions potassium de protéines et de molécules ARN, du microorganisme *S. sobrinus* parallèlement à son inactivation [Saito et al., 1992]. L'excrétion de ce type de composantes intracellulaires dans le milieu réactif traduit la destruction de la membrane cellulaire externe du microorganisme, ce qui inhibe ses activités métaboliques et conduit à son inactivation. Pour approfondir cet aspect, Sunada et al. ont mis en évidence, parallèlement au traitement photocatalytique d'*E. coli*, la disparition de la molécule d'endotoxine, qui est un composé intégral de la membrane cellulaire chez la bactérie [Sunada et al., 2003]. D'autres études, réalisées au biais du TiO_2 en suspension, ont également mis en avant l'action de la peroxydation lipidique sur la destruction de la membrane cellulaire, laissant infiltrer des nano particules de catalyseur à l'intérieur de la cellule microbienne [Maness et al., 1999]. La destruction membranaire de cellules d'*E. coli* par voie photocatalytique a également été rapportée par Pigeot-Rémy et al. Cette étude a mis en évidence, via des observations microscopiques au TEM, des changements structuraux progressifs au niveau de la paroi cellulaire, dues aux attaques radicalaires (Figure I-10). Parallèlement à cette observation, l'étude a mis en évidence la formation de sous produits de dégradation membranaire tels que les cétones, les aldéhydes, les acides carboxyliques et le CO_2 [Pigeot-Rémy et al., 2011].

Suite aux différents dommages photocatalytiques provoqués au niveau de la membrane cellulaire et après le relargage de composés de hauts poids moléculaires tels que les protéines dans le milieu extracellulaire, il a été démontré que lorsque le traitement persiste dans le

temps, une minéralisation complète des composants cellulaires pouvait avoir lieu. Ainsi, les composés produits en fin de réaction seraient principalement le CO₂, l'eau et des minéraux. Cette minéralisation complète a été décrite pour la première fois par Jacobay et al. après dépôt de *E. coli* sur des surfaces recouvertes de TiO₂ [Jacobay et al., 1998].



(1)

(2)

(3)

Figure I- 10: Observations microscopiques par TEM des étapes de dégradation d'E. coli au cours d'un traitement de photocatalyse en présence du TiO₂ en suspension ; (1) lyse de la membrane cellulaire, (2) destruction de la membrane, (3) destruction des composantes intracellulaires [Pigeot-Rémy et al., 2011].

Ces résultats ont été confortés par les études de Cheng et al., réalisées en phase liquide chez *Legionella pneumophila*. Des mesures, réalisées notamment à l'aide du carbone organique total, ont permis le suivi et la mise en évidence du processus de minéralisation complète des bactéries [Cheng et al. 2007].

A travers ces travaux, il ressort que le mécanisme de désinfection par photocatalyse est le résultat d'un effet synergique entre photolyse et réaction photocatalytique. L'effet du rayonnement suivant sa longueur d'onde cible particulièrement l'ADN moléculaire des microorganismes. Quand à l'effet photocatalytique, il semblerait que ce soit l'altération de la membrane cellulaire du microorganisme, due aux attaques radicalaires, suivie de la destruction des composés intracellulaires, qui soient les mécanismes principaux du processus de désinfection.

III-8 Modélisation du processus de désinfection par photocatalyse hétérogène

La conception d'un système de désinfection repose essentiellement sur la connaissance de la cinétique d'inactivation de microorganisme(s) indicateur(s) par le désinfectant. Dans le cas de la photocatalyse, c'est l'effet synergique de la concentration en catalyseur et de la densité de flux d'irradiation sur la vitesse du processus qui détermine la combinaison la plus efficace entre le temps de contact et la dose à employer. Actuellement, la plupart de ces informations sont obtenues à partir d'études réalisées à l'échelle laboratoire et extrapolée par une série de modèles empiriques. D'une manière générale, la modélisation de la désinfection dans l'eau a été initiée en se basant sur les principes d'une loi de premier ordre : la loi de Chick [Chick, 1908]. Chick a pu conclure sous certaines conditions, que les cinétiques d'inactivation des microorganismes sont étroitement analogues à celles des réactions chimiques. Ainsi, les lois fondamentales gouvernant les cinétiques de réactions chimiques ont été appliquées à des réactions radicalaires sur des microorganismes. Pour une concentration donnée en désinfectant, Chick a rapporté que la vitesse de désinfection est proportionnelle à la concentration microbienne suivant l'équation I-14.

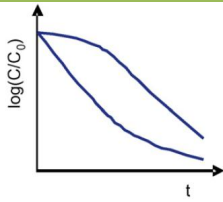
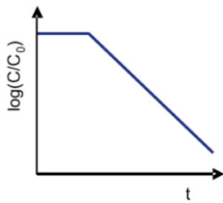
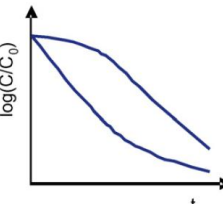
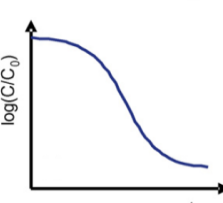
$$\dot{r} = -k C \quad \text{Eq. I-14}$$

Où \dot{r} est la vitesse de la désinfection exprimée en nombre de microbes par unité de volume par unité de temps, C est la concentration en microbe exprimée en cellules par unité de volume et k est la constante de vitesse dépendante de la nature et de la concentration du désinfectant.

Le modèle de Chick est une formulation simpliste qui consiste à décrire une vitesse de dégradation d'ordre 1 en fonction de la concentration en charge bactérienne. Néanmoins, elle a fait l'objet d'une utilisation extensive dans la désinfection par le chlore, l'ozone et le peroxyde d'hydrogène [McClellan, 2000] ou dans la désinfection photocatalytique de virus et de bactéries coliformes [Watts et al., 1995]. Cependant, compte tenu de la complexité du processus de désinfection par voie photocatalytique, différents profils cinétiques ne sont pas correctement décrits par le modèle de Chick. Afin de reproduire les différentes formes pouvant être induites lors de la désinfection par photocatalyse hétérogène, des évolutions du modèle de Chick (Tableau I-6) ont été rapportées dans la littérature [Marugan et al., 2008 ; Dalrymple et al., 2010]. A notre connaissance, ces modèles ne s'appuient pas sur des mécanismes locaux de

destruction des bactéries. Ce sont des expressions purement mathématiques qui visent à reproduire les profils observés des cinétiques d'inactivation. Elles ne rendent pas compte des mécanismes de dégradation et ne prennent pas en considération l'influence de paramètres clefs, tels que la densité du flux lumineux, l'interaction entre le microorganisme cible et le catalyseur ou encore le volume de l'effluent à traiter.

Tableau I- 6: Modèles empiriques pour la description des cinétiques de désinfection microbienne dans l'eau [Marugan et al., 2008].

Nom du modèle	Expression empirique	Profil de cinétique
Chick Watson modifié	$\log \frac{C}{C_0} = -k_1[1 - \exp(-k_2t)]$ <p>Eq. I-15</p>	
Chick Watson à retardement	$\log \frac{C}{C_0} = \begin{cases} 0 & \text{pour } t \leq t_0 \\ -k(t - t_0) & \text{pour } t > t_0 \end{cases}$ <p>Eq. I-16</p>	
Hom	$\log \frac{C}{C_0} = -kt^n$ <p>Eq. I-17</p>	
Hom modifié	$\log \frac{C}{C_0} = -k_1[1 - \exp(-k_2t)]^{k_3}$ <p>Eq. I-18</p>	

Le profil de cinétique, ayant été le plus rapporté, se décompose en trois phases : une première phase de latence, une deuxième phase de décroissance log linéaire et une troisième phase sous forme d'un palier final [Marugan et al., 2008]. Les mécanismes intrinsèques donnant lieu à ces différentes phases sont insuffisamment connus et maîtrisés. L'apparition courante d'une phase de latence en début de la désinfection est probablement due à une résistance du microorganisme aux attaques radicalaires induites par la photo-réaction. Dans ce cas, l'inactivation du microorganisme (e.g. décroissance de la concentration) n'est observée qu'à partir d'un certain seuil d'endommagement de la cellule [Marugan et al., 2008]. Ce concept

est déjà utilisé pour la description de l'inactivation bactérienne par voie thermique [Geeraerd et al., 2000]. La présence du palier à la fin du profil d'inactivation peut être justifiée, soit par l'apparition d'une sous population microbienne devenue résistante au traitement [Berney et al., 2006], soit par une inhibition de la réaction photocatalytique, due à la présence de sous produits de dégradation rentrant en compétition avec le microorganisme cible [Benabbou et al., 2007].

A ce jour, les études qui proposent un modèle mécanistique abouti et capable de décrire convenablement la désinfection photocatalytique sont peu nombreuses. Contrairement à l'approche empirique, dans l'approche mécanistique, il s'agit de s'appuyer sur un processus de dégradation afin de proposer un modèle représentatif des mécanismes de photodégradation des agents cibles. Ces modèles sont plus robustes et plus flexibles que les modèles empiriques. Ils permettent de prendre en compte plusieurs variables pour décrire les étapes menant à la désinfection [Weavers et Wicramanayake, 2001]. Plusieurs travaux ont été menés sur le sujet [Dalrymple, 2011]. Les modèles mécanistiques les plus courants, sont le modèle à *série d'événements*, le modèle à *cibles multiples* et le modèle de *Marugan*.

Le modèle à *série d'événements* est représenté par le schéma de principe (Equation I-19). Le processus de désinfection proposé se déroule en plusieurs étapes successives. La désinfection est due à une succession de niveaux d'endommagement de la cellule microbienne qui mène à la lyse de la cellule ou sa dégradation irréversible selon le niveau d'avancement de la réaction. Ainsi, le microorganisme cible est considéré inactif (mort) à partir d'un certain seuil d'endommagement [Severin et al., 1983].



Au cours de cette série d'événements, chaque niveau d'endommagement (D_i) est décrit par une constante cinétique (k_i) de premier ordre et un indice (i) représentant le niveau d'endommagement. L'indice (n) représente le niveau d'endommagement seuil à partir duquel le microorganisme est mort. Par exemple, les réductions bactériennes aux niveaux d'endommagements respectifs D_0 et D_1 sont exprimées par les équations I-20 et I-21 :

$$\frac{dC_{D0}}{dt} = -k_1 C_0 \quad \text{Eq. I-20}$$

$$\frac{dC_{D1}}{dt} = k_1 C_0 - k_2 C_{D1} \quad \text{Eq. I-21}$$

Où, C_{D0} et C_{D1} sont les concentrations du microorganisme (cellules par unité de volume de solution à traiter) au niveau d'endommagement correspondant et C_0 est la concentration microbienne initiale.

Le nombre total de microorganismes survivants représente la somme de tous les microorganismes ayant subis un endommagement en dessous du seuil maximal. En admettant que les constantes cinétiques (k_i) soient égales pour tous les niveaux d'endommagement, le taux de réduction microbienne totale s'exprime finalement en fonction de la concentration initiale C_0 , et finale C (cellules par unité de volume de solution à traiter), la constante de dégradation k (unité de temps⁻¹) et pour n niveaux d'endommagement suivant l'équation I-22.

$$\frac{C}{C_0} = \exp \left\{ -kt + \ln \left(1 + \sum_{i=1}^n \frac{(kt)^i}{i!} \right) \right\} \quad \text{Eq. I-22}$$

Le modèle à cibles multiples est similaire au modèle précédent. Cependant, dans ce cas le nombre (n) ne correspond pas à un niveau d'endommagement seuil, mais plutôt au nombre d'événements de dégradation à réaliser ou cibles à atteindre pour que le microorganisme soit inactif. Ainsi, l'inactivation du microorganisme est valide une fois que la somme des événements a eu lieu, c'est-à-dire, toutes les cibles endommagées. Le taux de réduction microbienne totale s'exprime en fonction de la concentration initiale C_0 , et finale C en (cellules par unité de volume de solution à traiter), la constante cinétique de dégradation k (unité de temps⁻¹) et pour n cibles à dégrader suivant l'équation I-23.

$$\frac{C}{C_0} = 1 - (1 - e^{-kt})^n \quad \text{Eq. I-23}$$

Le modèle de Marugan décrit la désinfection par photocatalyse en se basant sur des interactions de type *Langmuir* entre les microorganismes cibles et les particules de catalyseur [Marugan et al., 2008]. Les modèles, basés sur des interactions de type *Langmuir* sont

largement utilisés pour décrire les cinétiques de dégradation de molécules chimiques. Ils impliquent une première étape d'adsorption du polluant sur la surface du catalyseur suivie de la réaction photocatalytique subséquente. Afin de décrire la cinétique de désinfection, Marugan a pu utiliser ce modèle en ajoutant en plus un niveau intermédiaire de dégradation. Il classe ainsi les microorganismes selon trois groupes: les microorganismes intacts, les microorganismes endommagés et les microorganismes inactivés (morts). Ainsi, ce modèle tient compte du couplage des cinétiques de transfert de masse (de la phase liquide vers la surface du support) et de la cinétique de désinfection. L'évolution aussi bien des concentrations en bactéries intactes qu'endommagées peut être exprimée respectivement suivant les deux équations différentielles I-24 et I-25.

$$\frac{dC_{undam}}{dt} = -k \frac{K_{pseudo} C_{undam}^y}{1 + K_{pseudo} C_{undam}^y + K_{pseudo} C_{dam}^y} \quad Eq. I-24$$

$$\frac{dC_{dam}}{dt} = k \frac{K_{pseudo} C_{undam}^y - K_{pseudo} C_{dam}^y}{1 + K_{pseudo} C_{undam}^y + K_{pseudo} C_{dam}^y} \quad Eq. I-25$$

Ou C_{undam} et C_{dam} (cellules par unité de volume de solution à traiter) sont les concentrations respectives des microorganismes intacts et endommagés, K_{pseudo} (unité de temps⁻¹) et k (cellules par unité de volume de solution à traiter par unité de temps) sont les paramètres du modèle *Langmuir*.

Au vue de l'ensemble de ces modèles, il apparaît que l'inactivation des microorganismes par voie photocatalytique est très complexe et dépend d'une large gamme de variables connues et d'autres qui sont encore mal maîtrisées. De ce fait, la modélisation du processus de désinfection nécessite inévitablement des simplifications fortes et des approches empiriques afin de représenter au mieux les allures des cinétiques de désinfection produites [Dalrymple, 2011].

III-9 Conditions de mesure et évaluation de la réduction microbienne

La définition de la viabilité d'un microorganisme au cours du traitement photocatalytique est très controversée. Elle est liée à différents critères physiologiques et/ou métaboliques du microorganisme, tels que sa culturabilité, son intégrité membranaire, son activité respiratoire ou encore son activité enzymatique. Cette variété de critères correspond à des états physiologiques des bactéries. Par conséquent, selon le critère choisi, on ne définit pas un même état bactérien. Lors du processus de désinfection, les différents critères apportent des informations complémentaires. Pour identifier le degré de dégradation des bactéries, il existe différentes techniques de quantification bactérienne qui sont basées sur un ou plusieurs de ces critères. Le choix de la méthode du suivi « de la viabilité du microorganisme » au cours du traitement est donc un facteur clef à considérer. Selon la méthode, les informations apportées donneront des lectures différentes des résultats expérimentaux.

A titre d'exemple, Rincon et al., ont rapporté une différence nette entre la réponse d'une méthode de détection sélective et celle d'une méthode non sélective pour le suivi de la bactérie *E. coli* au cours de la désinfection par photocatalyse [Rincon et al., 2004]. La méthode non sélective (comptage sur boîte de pétrie dans le milieu Agar) a donné lieu à une réponse 1000 fois supérieure à celle obtenue par la méthode sélective (comptage dans le milieu *E. coli* CHROMagar). Ainsi, il est important de bien maîtriser l'information donnée par la méthode de quantification de façon à interpréter correctement les performances du procédé. Les résultats pouvant induire à une sous ou surestimation de l'efficacité de traitement, il semble donc essentiel de coupler les méthodes de quantification.

Un second point, spécifique à l'évaluation de la capacité de traitement d'un procédé, est la considération de l'aspect biologique de la cible. En effet, l'évaluation de l'efficacité du traitement en (%) peut être parfaitement acceptable dans le cas de la dégradation de polluants chimiques. Néanmoins, lorsque l'on considère la désinfection de microorganismes, cela peut être moins approprié. En effet, quelques études rapportent les résultats des taux de survies ou d'abattement des microorganismes en (%). Cependant, une prudence particulière doit être prise quant à l'interprétation de tels résultats. A titre d'exemple, la réduction d'une charge bactérienne de 10^8 cellules.mL⁻¹ à une charge de 10^3 cellules.mL⁻¹ correspondrait à un taux d'abattement de 99.99%. Quoique ce niveau de destruction paraisse effectif, la charge microbienne persistante après le traitement (10^3 cellules.mL⁻¹) continue à présenter un niveau

de contamination significatif. Cette charge représente non seulement un danger potentiel, mais aussi permettrait éventuellement une re-croissance microbienne après le traitement. Par conséquent, il est nécessaire d'inclure des méthodes de détection complémentaires afin d'étayer les résultats obtenus par la méthode de quantification utilisée.

Conclusion

Dans ce premier chapitre, une synthèse bibliographique centrée sur le procédé de photocatalyse hétérogène dédié à la désinfection dans l'eau a été présentée. Il ressort de ce travail le potentiel de la photocatalyse et sa complémentarité avec les procédés de traitement conventionnels pour la désinfection des microorganismes dans les eaux usées. Le processus du traitement par photocatalyse, à caractère non-sélectif, est un atout majeur en comparaison à d'autres procédés dont les performances sont limitées face à une grande variabilité microbienne. Cette technologie se distingue également par la possibilité d'utiliser la ressource solaire, qui la rend peu énergivore.

Dans ce travail, il a été important, afin de justifier le choix des axes de recherche abordés, de définir la notion d'indicateurs microbiens. Ces indicateurs sont un moyen pour estimer judicieusement l'efficacité d'un procédé de désinfection. Parmi ces indicateurs, la bactérie *Escherichia coli* est retenue comme indicatrice de contamination fécale. Afin de maîtriser le processus de désinfection par voie photocatalytique, il a été également nécessaire de faire apparaître les facteurs déterminants qui interviennent dans le déroulement du processus, tels que la mise en forme du catalyseur, la densité du flux lumineux et la composition du milieu à traiter.

Par ailleurs, malgré la performance avérée du catalyseur en suspension, le développement de catalyseurs supportés s'avère nécessaire pour étendre le traitement par photocatalyse hétérogène à une échelle plus importante. Il ressort que le rayonnement UV ainsi que l'interaction entre le microorganisme cible et le catalyseur sont des points clefs dans la compréhension du processus de désinfection. ***De ce fait, ces facteurs doivent être considérés dans l'optique de développement de modèles mathématiques visant à décrire convenablement le fonctionnement du procédé photocatalytique en désinfection.*** En s'appuyant sur les modèles existants, ayant été l'objet de la dernière partie, ***il s'agit de véritablement évaluer le potentiel de ce type de procédé pour la désinfection.*** Ces modèles ont pour objectif de permettre le dimensionnement des réacteurs pour des applications dans des conditions dites réelles ; effluent réel et condition d'irradiation solaire. Finalement,

l'appréhension du processus de désinfection démontre le choix très important de la méthode de quantification microbienne. ***L'utilisation de méthodes de quantification complémentaires*** s'avère donc nécessaire pour s'assurer de la description et de la compréhension des processus de désinfection ayant cours lors de la photocatalyse.

CHAPITRE II Inactivation d'*Escherichia coli* par photocatalyse hétérogène dans un réacteur fermé

Introduction

La photocatalyse hétérogène et en particulier la photocatalyse hétérogène solaire s'inscrivent dans le contexte de développement durable et permettent d'envisager l'élimination des agents pathogènes [Zhang et al., 1994 ; Rincon et Pulgarin, 2004 ; Lonnen et al., 2005 ; Mendez-Hermida, 2007 ; Malato et al., 2009] ayant persisté dans l'effluent de sortie d'une filière de traitement classique. Ces procédés, fonctionnant à température et pression proches des conditions ambiantes, mettent en œuvre une réaction photochimique pour activer un semi-conducteur solide et induire la formation d'espèces fortement oxydantes telles que les radicaux hydroxyles (OH^\bullet). Ces radicaux très réactifs permettent d'oxyder toute matière organique d'une manière non sélective et sont à la base du processus de désinfection par voie photocatalytique. Le semi conducteur peut être utilisé sous la forme de poudre nanométrique mise en suspension ou fixé sur un support solide. Il existe aujourd'hui un consensus autour de l'utilisation du catalyseur sous forme de poudre en suspension, comme catalyseur de référence. Cependant, la forme pulvérulente pose le problème de la séparation liquide-solide en fin de traitement. Les axes de développement s'orientent donc vers l'utilisation des médias catalytiques supportés.

Par ailleurs, dans un contexte de développement durable, le transfert de cette technologie existante sous irradiation UV artificielle vers une utilisation de l'énergie solaire semble prometteur. Cependant, l'utilisation de l'énergie solaire pose deux inconvénients à savoir la disponibilité et l'intermittence de la ressource. De plus, les propriétés des catalyseurs actuels, qu'ils soient mis en suspension ou supportés, présentent des performances bien trop faibles pour concevoir un procédé permettant d'utiliser la ressource solaire [Herrmann, 1999]. Ces lacunes sont principalement liées aux propriétés des catalyseurs telles que les phénomènes de recombinaison (limitant le rendement de production d'espèces radicalaires [Minero, 1999]) et le gap énergétique, (qui ne permet pas d'exploiter une large bande spectrale [Malato, 2002]), mais aussi aux caractéristiques du couple rayonnement et média photocatalytique au sein du milieu réactionnel. En effet, l'utilisation de la ressource solaire UV, qui ne représente que 50 W.m^{-2} , impose de mettre en forme des médias qui permettent d'exploiter au mieux les photons.

Ainsi, le développement d'un procédé de traitement photocatalytique permettant l'utilisation du rayonnement solaire fait ressortir deux verrous scientifiques et technologiques qui sont au cœur de notre thématique. *Le premier verrou* réside dans le manque de connaissance du

couplage - ressource disponible et performances des catalyseurs. *Le deuxième verrou* réside dans la difficulté à décrire le fonctionnement du procédé compte tenu de l'intermittence de la ressource solaire. Les fils conducteurs de ce travail consistent alors à i) définir les couples de catalyseurs/réacteur afin d'utiliser le rayonnement disponible de manière optimale, pour leur intégration dans un procédé solaire et ii) mettre en place un outil de simulation qui permet de décrire le fonctionnement du procédé tout en tenant compte de la mise en forme du catalyseur et de la variabilité de la ressource solaire. L'objectif à terme de ce travail est de mettre en place un procédé de désinfection par photocatalyse hétérogène solaire, d'eau résiduaire urbaine en sortie d'une STEP. La première brique consiste alors à évaluer les performances germicides de la photocatalyse hétérogène en fonction de différents paramètres clefs régissant le processus de désinfection. Cette tâche est d'autant plus difficile en raison de la composition complexe des eaux résiduaires et de l'intermittence de la ressource solaire. Ainsi dans un premier temps, notre démarche consiste à travailler sur un cas simplifié avec un microorganisme cible et dans des conditions de fonctionnement maîtrisées. Il s'agit donc d'étudier l'effet de différents paramètres clefs régissant le procédé d'inactivation du microorganisme modèle par photocatalyse, puis d'établir une loi cinétique permettant de décrire le fonctionnement du procédé dans des conditions contrôlées et enfin valider cette loi dans des conditions de fonctionnement dites 'réelles' (irradiation solaire).

Dans ce travail, le choix du microorganisme cible s'est porté sur un indicateur de contamination fécale des eaux usées, *Escherichia coli*. Cette bactérie a été choisie car elle est facile à cultiver, présente des métabolismes bien connus et fait l'objet de nombreux études bibliographiques [Bekbolet et Araz, 1996; Huang et al., 2000; Liu et Yang, 2003; Kuhn et al., 2003].

Dans une première partie, les expérimentations photocatalytiques sont conduites dans un réacteur de laboratoire en mode batch et dans des conditions d'irradiation, de pH et de température contrôlées. Au cours de cette étude, trois matériaux photocatalytiques ont été utilisés. Ces matériaux sont des catalyseurs commerciaux à base de dioxyde de titane (TiO₂). Ils se présentent sous la forme de deux poudres de tailles granulométriques différentes (rapport 1000), le Degussa P25 et le VP Aeroperl P25/20 et d'un catalyseur supporté (media Ahlstrom).

Préalablement aux expérimentations photocatalytiques, une approche visant à définir les conditions de mesure avec le procédé de désinfection est proposée. Cette première étape

consiste à déterminer la mise en œuvre optimale de chaque catalyseur utilisé afin de pouvoir comparer leur efficacité de traitement dans des conditions de fonctionnement identiques.

Les finalités de cette sous-partie sont de i) évaluer en absence d'irradiation l'affinité de chacun des catalyseurs avec la bactérie *E. coli*, ii) évaluer l'action directe de la photolyse puis de la photocatalyse sur la désinfection de la bactérie cible dans des conditions d'irradiation assimilables à des conditions solaires, iii) classer l'efficacité de chacun des catalyseurs pour un traitement de la bactérie *E. coli* sous une configuration optimale de fonctionnement et iv) établir un modèle cinétique permettant de simuler au mieux le fonctionnement du procédé de traitement photocatalytique dans les différentes conditions d'irradiation étudiées.

Dans la deuxième partie, les mesures sont réalisées dans des conditions dites réelles : (solaires, effluent réel). Les expérimentations photocatalytiques sont conduites dans un réacteur à plus grande échelle fonctionnant également en mode batch. Le traitement de la bactérie *E. coli* est étudié dans différentes matrices (solution de Ringer pure, effluent réel stérile, effluent réel) et en utilisant le catalyseur Degussa P25 en forme de poudre (catalyseur de référence). La finalité est d'établir les cinétiques de désinfection d'*E. coli* par voie photocatalytique solaire dans les différentes matrices étudiées afin de i) évaluer l'efficacité de désinfection de la bactérie cible dans des conditions solaires, ii) étudier l'effet de la nature du milieu sur l'efficacité de désinfection et iii) valider la méthodologie et la loi cinétique établie initialement dans des conditions solaires.

I- Présentation de l'indicateur de choix : *Escherichia coli*

I-1 Portrait

Escherichia coli (*E. coli*) (Figure II-1) est une bactérie à Gram (-) nommée aussi colibacille qui fait partie de la famille des entérobactéries. Isolée, groupée par deux ou plus rarement en amas, cette bactérie peut apparaître sous forme bacillaire assez courte (2 à 3 μm x 0,7 μm) ou filamenteuses dans les vieilles cultures. *E. coli* est une bactérie coliforme fécale, généralement commensale et souvent associée aux déjections humaines ou animales. Elle vit d'habitude dans l'intestin et est majoritairement inoffensive. En effet, plus de 95 % des souches d'*E. coli* ne sont pas dangereuses et sont au contraire utiles à notre métabolisme. Néanmoins, certaines souches d'*E. coli* peuvent être pathogènes pouvant entraîner des gastro-entérites, des infections urinaires ou des méningites. Quelques souches peuvent même être mortelles.

Les conditions optimales de réplication d'*E. coli* sont une température de 37 °C et un pH neutre. Dans ces conditions, la bactérie se réplique très rapidement (approximativement toutes les 20 min) mais elle peut toutefois être cultivée sur une plage de 15 °C – 45 °C. A l'échelle du laboratoire, c'est la bactérie la plus étudiée grâce à son métabolisme bien connu. De plus, sa haute résistance à divers effets bactéricides (l'irradiation UV par exemple) relativement à d'autres bactéries, fait d'elle un bon indicateur de présence de contamination fécale dans les eaux usées [Acra et al., 1984].

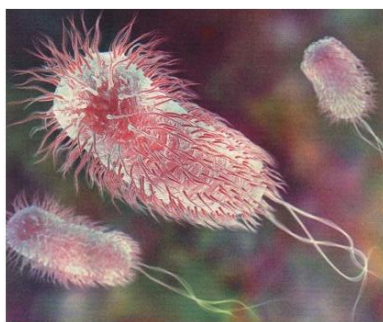


Figure II- 1: Portrait photographique d'*E. coli*.

I-2 Méthode de quantification : la microplaque MUG/*E. coli*

La quantification bactérienne peut être réalisée suivant différentes méthodes. Il convient de distinguer la méthode de culture (comptage indirecte de bactéries après une étape de culture), la méthode microscopique (comptage direct des bactéries observées sous microscope) et la méthode moléculaire (quantification de l'ADN des bactéries). Dans ce travail, la quantification bactérienne d'*E. coli* est réalisée suivant la méthode des microplaques MUG/*E. coli* [NF EN ISO 9308-3]. Cette méthode standardisée fait partie des méthodes de culture. Elle permet de détecter l'activité enzymatique des bactéries éventuellement présentes dans l'inoculum puis de retrouver leur nombre le plus probable par unité de volume d'échantillon analysé.

Le principe de cette technique est simple. Chaque microplaque (Figure II-2) se compose de 96 puits (12 rangées de 8 puits) contenant un substrat, le MUG (4- méthylumbelliféryl-β-D-glucuronide). Ce dernier est incorporé dans un milieu de culture (peptone, salicine, Tripton X) déshydraté et fixé au fond des puits de la microplaque. La réhydratation du milieu se réalise lorsque l'échantillon liquide à analyser est introduit dans les puits.



Figure II- 2: Photographie d'une microplaque MUG/*E. coli*

L'échantillon est introduit dans les rangées de puits suivant des dilutions décroissantes ($1/200000$; $1/20000$; $1/2000$; $1/200$; etc) puis incubé à $44\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 24 h. L'incubation à cette température est étudiée afin d'inhiber la croissance d'une éventuelle contamination microbiologique extérieure. Au cours de la phase d'incubation (culture), la bactérie *Escherichia coli* hydrolyse le MUG en 4-méthylumbelliférone. Ce dernier émet une fluorescence bleue qui peut être observée sous une lampe UV proche du visible. Le nombre de puits fluorescents permet de déterminer un nombre caractéristique à qui on associe une concentration bactérienne (NPP/100mL) en se référant à la table NPP de Mac Grady.

I-3 Culture bactérienne et préparation de la suspension mère

La souche bactérienne *E. coli* DSM 30083 a été utilisée dans toutes les expérimentations photocatalytiques. Cette souche de laboratoire est un organisme modèle qui est non pathogène, utilisé dans la recherche de laboratoire.

Pour préparer une solution mère, une colonie bactérienne d'*E. coli* cultivée sur milieu gélosé est, dans un premier temps, repiquée etensemencée dans 1 mL de milieu Luria Bertani (LB) dans des conditions stériles, puis incubée à $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ pendant 24h. Un volume de 0.5 mL de la pré-culture obtenue est réensemencé dans des conditions stériles, dans 100 mL de milieu Luria Bertani (LB) puis incubée à $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ dans des conditions aérobiques. Le suivie de la croissance bactérienne est fait grâce à un contrôle périodique de la densité optique de la suspension sous une longueur d'onde de 600 nm via un spectrophotomètre (*UV mini – 1240*, Shimadzu). La phase stationnaire est obtenue après 22 h de culture (Figure II-3). La concentration bactérienne de la solution « mère » obtenue est de l'ordre de 10^{10} NPP/L.

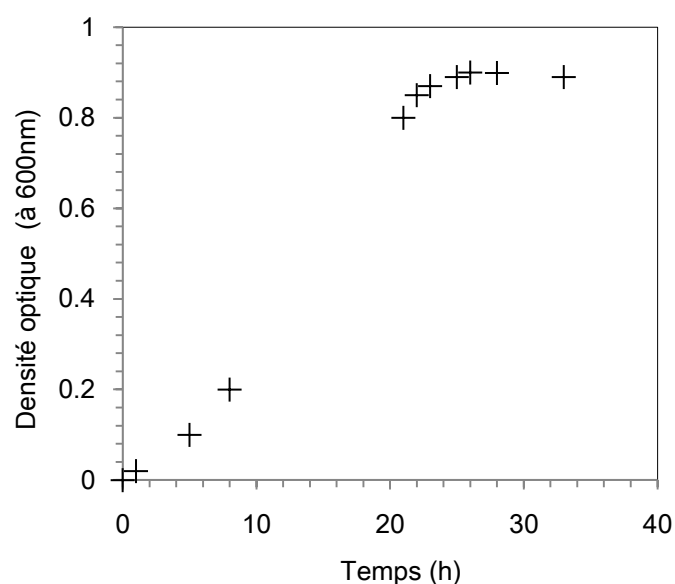


Figure II- 3: Cinétique de croissance d'E. coli à pH neutre et à température égale à 37°C.

Les suspensions bactériennes utilisées pour les traitements photocatalytiques, sont obtenues par dilution adéquate de la suspension mère (en phase stationnaire). Celle-ci étant stockée à 4°C tout au long des traitements photocatalytiques pour éviter toute contamination et évolution de la concentration. La solution de dilution utilisée est la solution de « Ringer ». Cette solution saline est composée de chlorure de calcium 0,12 g.L⁻¹, chlorure de potassium 0,1 g.L⁻¹, bicarbonate de sodium 0,05 g.L⁻¹, chlorure de sodium 2,25 g.L⁻¹. Elle assure l'équilibre osmotique du milieu et préserve le bon état physiologique des cellules.

II- Matériaux photocatalytiques

Pour un catalyseur donné, la surface développée est un facteur clef permettant de favoriser les interactions entre les bactéries et la surface réactive. Les suspensions de poudres répondent parfaitement à ce critère. Cependant, l'emploi d'un catalyseur en poudre nécessite un post traitement de filtration et représente ainsi une contrainte de coûts d'investissement et de maintenance. D'où l'intérêt grandissant de l'utilisation des catalyseurs supportés. Néanmoins, quoique les catalyseurs supportés permettent de s'affranchir du post-traitement, leur utilisation peut engendrer une limitation liée au transfert de matière ou au transfert de rayonnement au sein du volume réactionnel.

Afin d'apporter une réponse à ces différents points critiques, les expérimentations photocatalytiques sont conduites en utilisant trois catalyseurs à base de TiO₂, à savoir le catalyseur Degussa P25 et le VP Aeroperl P25/20 en forme de poudre et le catalyseur

supporté Ahlstrom. Les matériaux en poudre se rejoignent en termes de propriétés surfaciques mais différent de leur rapport de taille (rapport 1000) et donc de leur surface réactive. Quand au matériau supporté, il se présente sous la forme d'une matrice cellulosique recouverte de catalyseur. Ce choix de matériaux permet d'étudier dans des conditions de fonctionnement identiques, l'effet de la mise en forme du catalyseur sur sa capacité à utiliser la lumière, sa capacité à interagir avec la bactérie cible et sur son efficacité de désinfection.

II-1 Le TiO₂ supporté: media Ahlstrom Grad 1048

L'Ahlstrom Grad 1048 (Figure II-4) est un catalyseur supporté à base de TiO₂ Millenium PC-500 commercialisé par la firme Ahlstrom. Ce média photocatalytique, d'une surface spécifique égale à 96 m².g⁻¹, est composé de fibres cellulosiques (38 g.m⁻²), de TiO₂ (20 g.m⁻²), de SiO₂ (13,3 g.m⁻²) et de zéolites (3,4 g.m⁻²). Le media a un taux de recouvrement en TiO₂ égal à 20% [Correia, 2011]. Les particules de TiO₂ ont une structure cristalline exclusivement anatase (> 99 %), une taille moyenne de particules comprise entre 5 et 10 nm et une surface spécifique qui se situe aux alentours de 340 m².g⁻¹. Il est fixé sur le support via un procédé particulier : le « size press » et est maintenu au support fibreux grâce à un liant inorganique constitué de fibres de silice colloïdales.



Figure II- 4: Media Ahlstrom Grad 1048

Les études menées sur le media Ahlstrom mettent en avant son évolution au cours des premiers cycles d'utilisation. Un phénomène de relargage de poudre de TiO₂ dans le milieu liquide a été observé à plusieurs reprises, ce qui impacte sur son activité photocatalytique avant une stabilisation [Lhomme, 2006 ; Janin, 2012]. Afin de s'assurer de la répétabilité de l'activité photocatalytique du catalyseur, un protocole de lessivage préalable est réalisé. Cette procédure, qui précède l'étape du traitement photocatalytique, consiste à rincer à plusieurs reprises le matériau avec de l'eau ultra pure afin de minimiser le relargage.

II-2 TiO₂ en poudre

II-2-1 Le Degussa P25

Grâce à ses propriétés semi-conductrices et à sa faible granulométrie, le TiO₂ *Degussa P-25* sert de catalyseur de référence. Il exprime la meilleure efficacité de traitement photocatalytique dans l'eau due à sa bonne répartition dans le volume réactionnel [Plantard et Goetz, 2014]. Il s'agit d'une poudre blanche (Figure II-5) utilisée en suspension. Sa structure cristalline est composée principalement d'anatase (78%) et de rutil (22%). Sa surface spécifique est de 54 m².g⁻¹ et la taille de ses grains est centrée autour de 20 nm. En fonction de la valeur du pH du milieu réactif, ces grains ont tendance à s'agglomérer pour former des agrégats de tailles plus significatives (100 nm). Ainsi, préalablement aux expérimentations, les échantillons de TiO₂ sont traités systématiquement par ultrasons dans un faible volume d'eau distillée (20 mL) et durant 15min afin de minimiser la présence des agrégats au cours du traitement photocatalytique.



Figure II- 5: Poudre de TiO₂

II-2-2 Le VP Aeroperl P25/20

Le deuxième catalyseur en poudre est le TiO₂ VP Aeroperl P 25/20. Il s'agit aussi d'une poudre blanche. Sa structure cristalline est composée principalement d'anatase (80%) et de rutil (20%). Sa surface spécifique est de 46 m².g⁻¹ et la taille de ses grains est centrée autour de 20 µm. Soit un rapport de taille de 1000 avec le P25. La granulométrie importante de ce matériau comparée à celle du Degussa P25 (20 nm) facilite sa séparation de la phase liquide (par filtration ou décantation) et donc le post traitement qui représente à ce jour un frein à l'application du traitement photocatalytique des eaux résiduaires à l'échelle industrielle.

III- Optimisation de la mise en œuvre du matériau

La performance d'un matériau photocatalytique est fortement dépendante de sa capacité à absorber le rayonnement qu'il reçoit [Plantard et Goetz, 2014]. Etant donné la mise en forme différente de chacun des catalyseurs étudiés, les efficacités de traitement de ces derniers doivent être comparées à même quantité de lumière absorbée. Ainsi, la première étape consiste à déterminer la mise en œuvre optimale de chaque catalyseur. Cela correspond à la détermination de la configuration permettant idéalement d'absorber la totalité du rayonnement reçu par la surface du catalyseur. Pour une poudre, la grandeur caractéristique de mise en œuvre est définie par sa concentration [Mills, 1997 ; Herrmann, 1999 ; Minero, 1999 ; Correia et al., 2011 ; Janin, 2012 ; Plantard et Goetz., 2014]. Dans le cas d'un média 2D, le taux de recouvrement de la surface par le photocatalyseur est un paramètre d'intérêt [Correia et al., 2011]. Dans le cas d'une mousse, les paramètres clés de mise en œuvre sont donnés par la maille caractéristique, la densité des pores etc. [Plantard et al., 2011 ; Elatmani et al., 2013 ; Plantard et Goetz 2014].

Un banc optique est mis en place pour déterminer ces configurations optimales. Le protocole établi vise à mesurer la transmittance de lumière en fonction de la dimension et la mise en œuvre de chaque catalyseur. L'objectif est d'établir une corrélation entre les propriétés des catalyseurs et leur capacité à transmettre et/ou réfléchir le rayonnement.

III-1 Le banc optique

L'absorption de la lumière par le photocatalyseur est étroitement dépendante de ses performances de traitement. Quelque soit le media utilisé, si la quantité de photon absorbée «utilement» par le photocatalyseur (servant à la production de OH°) est très délicate à déterminer, il reste essentiel de connaître le gradient d'irradiation au sein du média. L'utilisation de médias catalytiques en 3 dimensions tels que des particules en suspension génère une dispersion du flux photonique incident. Ce phénomène de déviation ne permet pas de mesurer correctement le flux sortant du milieu par un spectrophotomètre classique mesurant habituellement un flux collimaté. Un banc optique (Figure II-6) constitué d'une source lumineuse simulant une irradiation solaire ($250 < \lambda < 2500 \text{ nm}$), d'une sphère d'intégration et d'un spectrophotomètre (*Ocean optique HR4000*) a été mis en place pour mesurer la totalité du rayonnement. En effet, la sphère d'intégration permet de collecter le rayonnement diffus et collimaté. Les propriétés optiques de chacun des catalyseurs étudiés sont définies ainsi par la mesure du flux de lumière global qu'ils transmettent.

Le principe de mesure de la transmittance du flux lumineux à travers le catalyseur repose sur l'association de la sphère d'intégration avec le spectrophotomètre. Le rayonnement à caractériser pénètre par une ouverture calibrée à l'intérieur de la sphère dont la surface interne est revêtue d'une couche de sulfate de baryum, matériau parfaitement réfléchissant ($>95\%$ pour $\lambda > 250$ nm). La mesure du rayonnement en sortie de la sphère est assurée par l'intermédiaire d'une fibre optique dont les extrémités sont connectées d'une part à la sphère intégrante et d'autre part au spectrophotomètre. L'ensemble fibre/spectrophotomètre est calibré avant chaque série de mesures par l'intermédiaire d'une lampe de calibration connectée directement sur l'entrée de la fibre optique. La gamme spectrale mesurable avec le spectrophotomètre utilisé est limitée à des longueurs d'onde comprises entre 250 et 1100 nm. Ce domaine, bien qu'incomplet au regard du spectre solaire, permet de visualiser les trois domaines principaux constitués de l'UV, du visible et du proche Infra Rouge.

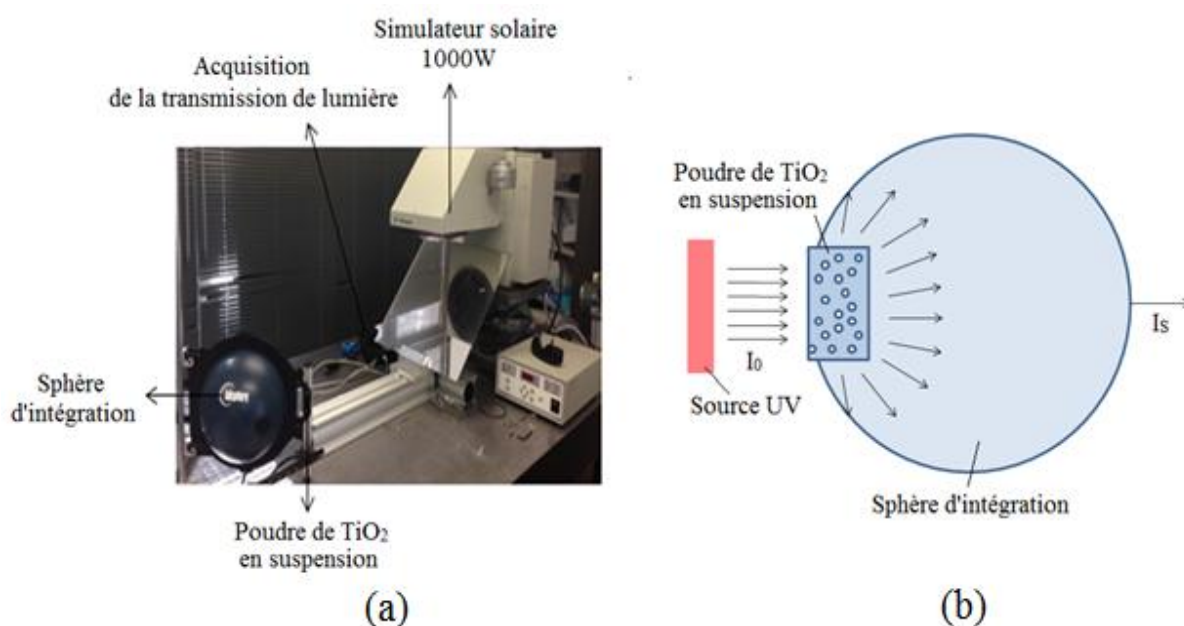


Figure II- 6: Photographie du banc optique (a) Principe de mesure de la transmittance à travers la sphère d'intégration (b).

III-2 Mode opératoire

La détermination des propriétés optiques de chaque matériau est réalisée via des mesures de transmittance de lumière T_r suivant l'équation II-1 :

$$T_r = \frac{I_s}{I_0} \quad \text{Eq. II-1}$$

Où I_0 et I_s (W.m^{-2}) sont les densités de flux de lumière incidente et transmise du catalyseur respectivement.

Afin de déterminer la concentration optimale des catalyseurs en poudre, des suspensions de TiO_2 Degussa P25 et VP Aeroperl de concentrations différentes sont préparées. La gamme de concentrations étudiées s'étend de 0,1 à 3 g.L^{-1} pour le catalyseur Degussa P-25 et de 0,1 à 4 g.L^{-1} pour le catalyseur VP Aeroperl P25/20. Les suspensions sont placées successivement dans une cellule en quartz de 2 cm d'épaisseur (correspondant au trajet optique du rayonnement (L)) puis positionnées à l'entrée de la sphère d'intégration. Dès lors, un profil de la transmittance de lumière (I_s/I_0) en fonction du produit de la concentration du catalyseur par le trajet optique du rayonnement est déterminé pour chacun des catalyseurs. En considérant le trajet optique du rayonnement, la concentration optimale en catalyseur est obtenue pour une transmittance maximale égale à 10%.

Dans le cas du catalyseur supporté, la capacité de transmittance de lumière du matériau 2D est évaluée dans des travaux antérieurs [Plantard et al., 2011 ; Correia, 2011]. Il en ressort que le papier Ahlstrom est quasi opaque et donc permet une transmittance $< 10\%$.

III-3 Résultats et discussion

L'objectif principal de cette étape est de déterminer via la méthode optique la concentration minimale en poudre de catalyseur qui minimise la transmittance du rayonnement traversant la suspension étudiée (10% de la densité de flux incidente).

La Figure II-7 présente l'évolution de la transmittance du rayonnement lumineux en fonction du produit de la concentration en TiO_2 par la longueur (L) du chemin optique parcouru par le rayonnement, soit la profondeur de la cellule utilisée pour les mesures (2 cm).

Cette dépendance vis-à-vis du produit C_{TiO_2} par L correspond implicitement à l'hypothèse d'une atténuation de la densité de flux qui ne dépend que du nombre de particules photosensibles rencontrées par les photons. Ce type de dépendance se retrouve par exemple dans une expression des profils d'irradiation en milieu selon le modèle à deux flux [Dauchet, 2012]. Cette hypothèse a également été vérifiée dans le cas des suspensions par des mesures systématiques de transmission pour différentes combinaisons de concentrations et de longueurs de trajet optique [Touchagues, 2012 ; Elatmani, 2013].

Les allures des courbes de transmittance obtenues pour les deux types de poudre de TiO_2 sont similaires. Le signal s'atténue avec le produit de la concentration du catalyseur par le trajet optique du rayonnement. Néanmoins, pour une épaisseur donnée, il faut une quantité plus importante de VP Aeroperl que de Degussa P25 pour transmettre une même quantité de lumière. La capacité de transmittance du catalyseur P-25 plus faible que celle du VP Aeroperl P-25/20 est probablement due à sa surface spécifique plus élevée qui favorise le phénomène de diffusion.

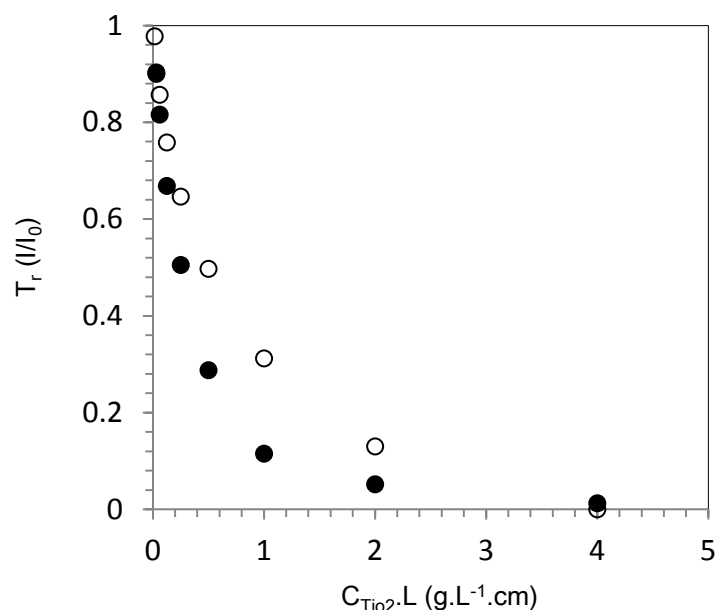


Figure II- 7: Evolution de la transmittance en fonction du produit de la concentration en TiO_2 par le trajet optique utilisant la poudre Degussa P25 (●), la poudre VP Aeroperl (○).

Au vue des résultats obtenus, une transmittance de 10% de la densité de flux entrante dans la cuve est atteinte pour un produit $C_{\text{TiO}_2} \cdot L$ égal à 1 g.L⁻¹.cm dans le cas du catalyseur Degussa P25 et 2.4 g.L⁻¹.cm dans celui du VP Aeroperl.

IV- Inactivation bactérienne sous irradiation artificielle

IV-1 Le montage de laboratoire

Le montage de laboratoire utilisé (Figure II-8) pour la réalisation de cette étude fonctionne en circuit fermé (en mode batch). Il est constitué d'un réservoir de stockage (volume maximum de 5 L) relié à un réacteur tubulaire (volume de 0,09 L) via une pompe centrifuge (Cole Parmer). Le réacteur est un tube en quartz dont la paroi permet une transmittance du rayonnement UV supérieure à 90 % dans la gamme de longueurs d'onde considérée. Il

présente une géométrie de 80 cm de longueur, 1,2 cm de diamètre extérieur et 0,15 cm d'épaisseur.

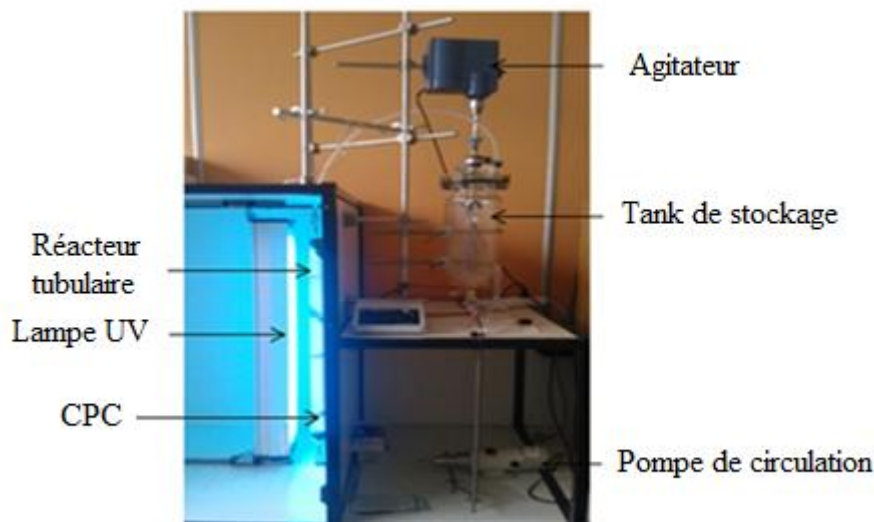


Figure II- 8: Réacteur fermé fonctionnant sous UV artificielle

Un réflecteur de type CPC (Compound parabolic collector) (Figure II-9) est placé à l'arrière du réacteur afin d'homogénéiser l'irradiation sur toute sa périphérie. Le CPC se constitue d'une plaque en aluminium polie de 0,5 mm d'épaisseur et présente une réflectivité de 95% dans le domaine UV considéré.

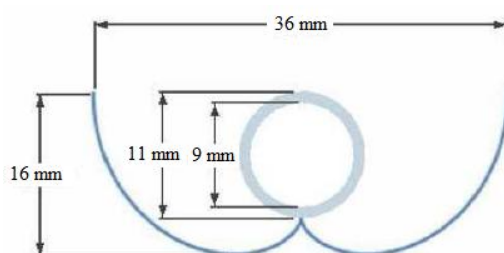


Figure II- 9: Géométrie du réflecteur CPC [Correia, 2011].

L'irradiation UV est émise par une lampe UV (VL-330 Vilbert Lourmat), d'une hauteur de 90 cm et dont le spectre d'émission s'étend de 300 nm à 400 nm. Celle-ci est fixée sur un rail permettant de faire varier la distance entre la lampe et le réacteur et donc la densité de flux reçue par ce dernier. La gamme étudiée varie ainsi entre une valeur minimale et maximale de 3 W.m^{-2} et 40 W.m^{-2} respectivement. La calibration de la lampe est réalisée préalablement aux expérimentations via un UV mètre (Lutron Electronic).

La géométrie de la lampe, associée à la présence du réflecteur CPC, assure des conditions d'irradiation quasi-uniforme sur toute la surface du tube réacteur. Ce point est vérifié par des mesures effectuées le long de l'axe vertical indiquant une dispersion inférieure à 3% par rapport à la valeur moyenne.

Les différentes caractéristiques et géométries du montage expérimentale telles que le volume total de stockage (V_T), le volume du réacteur (V_r), le rapport du volume irradié par le volume total (V_r/V_T), la longueur du réacteur (L), les diamètres externe et interne du réacteur (\varnothing_{ext} , \varnothing_{int}), la surface du réacteur (S_r) et la densité de flux d'irradiation (I) sont résumées dans le tableau II-1 :

Tableau II- 1: Caractéristiques et géométries du montage de laboratoire.

V_T (L)	V_r (L)	V_r/V_T	L (m)	\varnothing_{ext} (m)	\varnothing_{int} (m)	S_r (m ²)	I (W.m ⁻²)
1 - 5	0.09	0.018 – 0.09	0.8	0.012	0.01	0.03	3 - 40

IV-2 Interaction bactérie - catalyseur

IV-2-1 Conditions expérimentales

Préalablement au traitement photocatalytique, une étude préliminaire est réalisée dans le noir. La finalité de travailler en absence d'éclairage est d'étudier l'affinité de la bactérie *E. coli* vis à vis des matériaux utilisés, en quantifiant le phénomène d'adsorption bactérienne où ce qui peut être appelé d'une façon plus appropriée l'adhésion bactérienne (vue la faible porosité des matériaux étudiés). Les expérimentations d'adhésion bactérienne sont réalisées dans une solution saline de Ringer à un pH de 6.9 et sous une température de 25°C. Les concentrations bactériennes initiales étudiées sont comprises entre 10^4 NPP.L⁻¹ et 10^7 NPP.L⁻¹. L'évolution de la concentration bactérienne dans la solution est suivie à partir d'un échantillonnage périodique de volume égal à 18 mL

En vue de confirmer ce phénomène d'adhésion, des échantillons sont prélevés au bout de 30 min de temps de contact avec la bactérie étudiée, lavés à l'eau Milli Q, séchés à température ambiante puis analysés sous un microscope électronique à balayage (*Hitachi S-4500*). Les surfaces à étudier sont préalablement métallisées sous un flux de palladium (60%) et d'or (40%) afin d'éliminer les charges en surface.

IV-2-2 Mise en évidence de l'adhésion bactérienne

Le mécanisme d'inactivation bactérienne au cours du traitement photocatalytique repose sur des attaques radicalaires des membranes des bactéries. Compte tenu des durées de vie très faibles des espèces oxydantes, la réalité du processus d'inactivation sera véritablement favorisée dans le cas d'un contact, d'une adhésion entre les deux espèces que sont les bactéries et les particules de photocatalyseurs ou dans un voisinage très proche des bactéries. Dans la mesure où le transfert des bactéries vers la surface du catalyseur représente une étape clé dans le processus de dégradation, l'étude préalable de l'affinité de la bactérie *E. coli* avec les différents catalyseurs s'avère essentielle. Cette affinité peut être quantifiée précisément à partir de la détermination des courbes d'équilibres d'adhésion bactérienne relatives à chacun des catalyseurs. Elle peut également être mise en évidence qualitativement à partir d'observation microscopiques au MEB.

Les observations au MEB des bactérie(s) d'*E. coli* en absence et en présence de particules de catalyseurs Degussa P25 et VP Aeroperl sont présentées dans les figures II-10 (a), II-10 (b) et II-10 (c) respectivement.

La figure II-10 (a), présente une cellule type de la bactérie *E. coli* déposée sur un filtre en polypropylène. L'échantillon observé provient de bactéries en suspension dans le milieu de dilution Ringer. La cellule observée présente une morphologie intacte, en forme de bacille (tige), de 6 μm à 7 μm de longueur et de 0.7 à 0.8 μm de largeur. L'aspect lisse et continu de la membrane externe de la cellule montre que le milieu de dilution, utilisé tout au long de cette étude, n'influe pas sur la morphologie de la bactérie.

Les figures II-10 (b) et II-10 (c) présentent la/les bactérie(s) d'*E. coli*, au bout de 30 min de contact avec les catalyseurs Degussa P25 et VP Aeroperl, respectivement. Au contact du catalyseur TiO_2 dans le noir et quelque soit sa granulométrie, la bactérie garde une morphologie cellulaire intacte. Ceci met en évidence la neutralité du TiO_2 vis-à-vis de la bactérie en absence d'éclairage pendant la durée de contact étudiée.

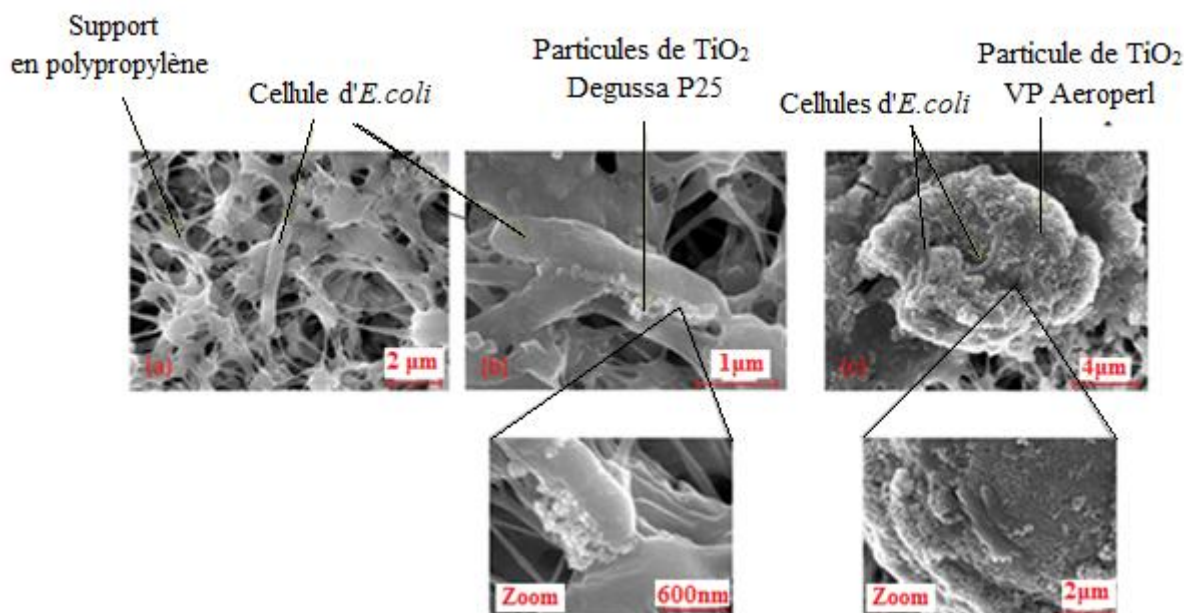


Figure II- 10: Observation microscopique au MEB de la bactérie *E. coli* en absence de catalyseur (a); au bout de 30 min de contact avec le: Degussa P25 (b), le VP Aeroperl (c).

On note que les interactions entre *E. coli* et le TiO₂ sont de deux ordres selon le rapport de taille particule/cellule. Dans le premier cas, les particules de catalyseur Degussa P25, d'un diamètre moyen de 20 nm, sont significativement plus petites que la cellule bactérienne. Plusieurs particules de TiO₂ adhèrent ainsi à la surface externe de la bactérie. Dans le deuxième cas, un phénomène inverse se produit dans la mesure où se sont les bactéries, d'une taille moyenne 10 fois plus petite que celle d'une particule de VP Aeroperl, qui adhèrent à la surface externe du catalyseur.

Grâce à ces observations microscopiques, le phénomène d'adhésion bactérienne est mis en évidence dans deux principaux cas de figures décrits auparavant dans la littérature [Dalrymple et al., 2010]. Le premier est celui où c'est la bactérie qui supporte les grains de catalyseur (cas du Degussa P25) et le deuxième est celui où c'est le catalyseur qui joue le rôle de support (le cas du VP Aeroperl est éventuellement similaire à celui du support Ahlstrom).

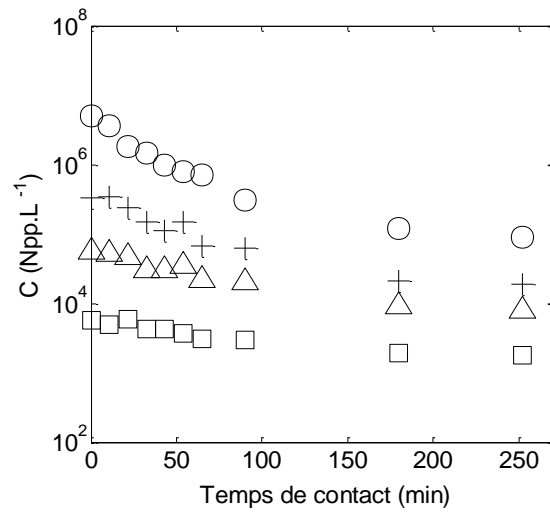
IV-2-3 Equilibres et cinétiques d'adhésion

L'adhésion bactérienne sur la surface du TiO₂ est un phénomène déjà décrit dans la littérature [Liu et al., 2013 ; Pablos et al., 2013]. Contrairement au phénomène d'adsorption, c'est un processus qui a lieu uniquement à la surface du catalyseur. Ce phénomène est dû essentiellement à des interactions électrostatiques de faibles énergies (de type Van der Waals)

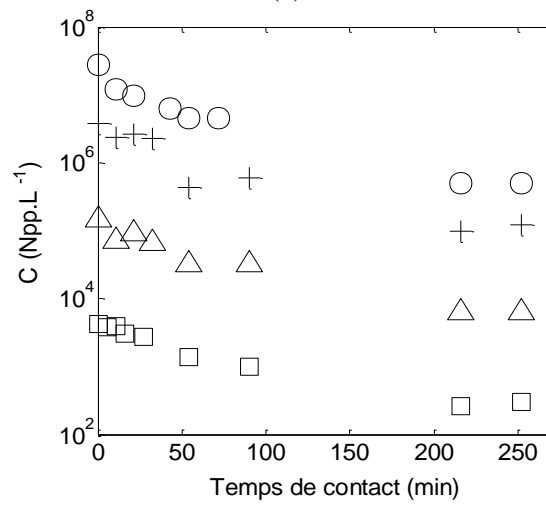
entre la surface du catalyseur et celle de la bactérie [Dalrymple, 2011]. Dans le cas où le catalyseur est granulaire, ce phénomène est souvent favorisé par la formation d'état colloïdal entre les particules du catalyseur et les bactéries suspendues dans la phase liquide. Cet état est d'autant plus accentué que la valeur du pH est proche du PZC (égale à 6.9). En effet, il est démontré que l'absence de charges répulsives à la surface du catalyseur favorise l'attachement des membranes bactériennes dont la charge électrostatique est souvent à caractère négatif [Pablos et al., 2013].

Le phénomène d'adhésion ainsi que la vitesse à laquelle celui-ci se produit sont mis en évidence par les profils de concentration C (NPP.L^{-1}) d'*E. coli* dans la phase liquide en fonction du temps de contact t (min) avec le catalyseur (Figure II-11).

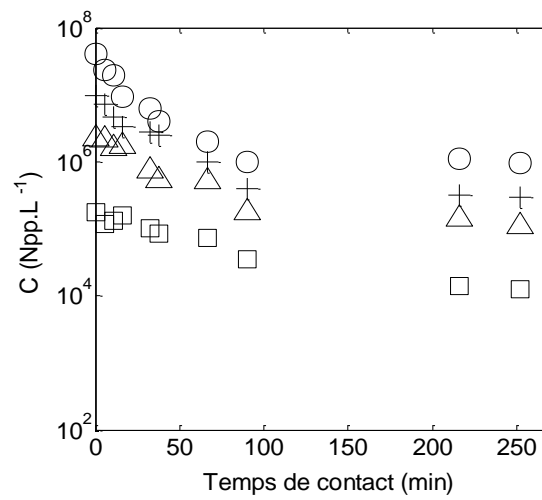
Indépendamment de la charge bactérienne initiale, les profils des concentrations dans la phase liquide obtenus présentent une diminution initiale notable puis se stabilisent approximativement au bout de 100 min autour d'une concentration d'équilibre (C_e). Cette limite asymptotique correspond à un état d'équilibre entre les bactéries en adhésion avec les particules de solide (catalyseur) et les bactéries présentes dans la phase liquide [Hijnen et al., 2010]. A l'équilibre, un bilan matière permet de quantifier le nombre de cellules bactériennes (NPP) en adhésion à la surface du catalyseur. Tout ce qui disparaît de la phase liquide est transféré vers la phase solide. Le dénombrement obtenu est rapporté par unité de surface de matériau photocatalytique afin d'obtenir la quantité de cellules par unité de surface de matériau q_e (NPP.m^{-2}).



(a)



(b)



(c)

Figure II- 11: Cinétiques d'adhésion d'*E. coli* pour différentes charges bactériennes initiales utilisant le: Degussa P25(a), VP Aeroperl (b), média Ahlstrom(c).

La Figure II-12 présente les courbes d'équilibres d'adhésion obtenues pour chacun des matériaux. Ces courbes rapportent la densité des bactéries en adhésion q_e (NPP.m⁻²) à la concentration bactérienne correspondante en phase liquide C_e (NPP.L⁻¹) et à l'équilibre.

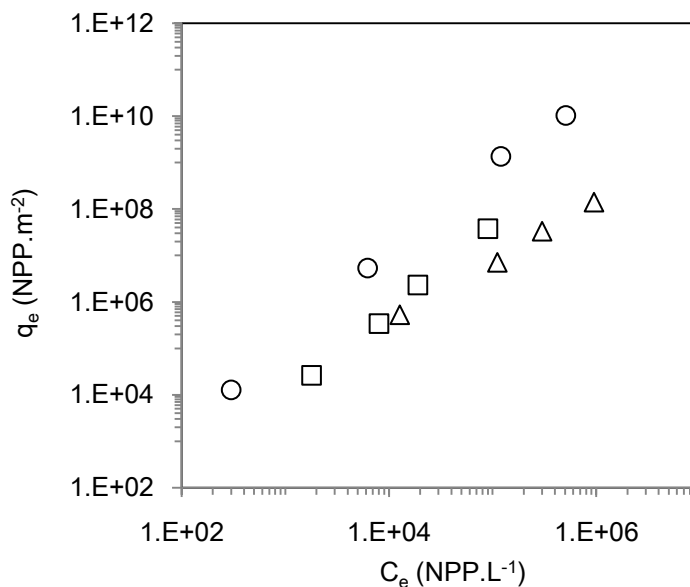


Figure II- 12: Profils des équilibres d'adhésion bactériennes utilisant: le VP Aeroperl (o), le Degussa P25 (□), le média Ahlstrom (Δ).

A l'équilibre, le résultat obtenu montre que la capacité d'adhésion bactérienne du catalyseur supporté est légèrement inférieure à celle des catalyseurs en suspension. En terme d'affinité avec la bactérie étudiée, les catalyseurs se classent selon l'ordre croissant suivant: Papier Ahlstrom < Degussa P25 < VP Aeroperl. Ce résultat est cohérent dans la mesure où i) un catalyseur en poudre se disperse mieux dans le volume réactionnel augmentant ainsi sa probabilité de mise en contact avec la bactérie cible, ii) développe une surface plus importante comparé à un catalyseur supporté. De plus, au vue du pH de travail (6.9), la capacité d'adhésion développée par la suspension peut être éventuellement accentuée par la création potentielle d'agrégats de grains de catalyseur de poids significatifs, susceptibles de piéger d'avantage les cellules bactériennes dans la phase solide [Pablos et al., 2013].

Dans le but de décrire les mécanismes d'adhésion et de définir les paramètres représentatifs des profils des équilibres obtenus, différents modèles d'isothermes d'adsorption (*Langmuir*, *Hinshelwood*, *Temkin*, *Dubin*, *Radushkevich*, *Kaganes* et *Freundlich*) sont testés. Ces

modèles sont souvent appliqués dans l'adsorption des polluants dans les grains d'adsorbants [Janin, 2012].

Les paramètres à déterminer pour chaque modèle d'isotherme sont identifiés en minimisant l'Erreur Relative Moyenne (Equation II-2) entre les valeurs expérimentales (q_{exp}) et les valeurs calculées (q_i) et pour n points expérimentaux.

$$ERM (\%) = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n \left| \left(\frac{q_{exp} - q_i}{q_{exp}} \right) \right| \cdot 100 \quad Eq. II-2$$

Le modèle permettant d'obtenir la meilleure concordance est celui de Freundlich. Ce modèle, décrit par l'équation II-3 est un modèle empirique qui prend en compte les coefficients de variations d'énergie d'interaction avec le taux de recouvrement représenté par le paramètre n . La constante de Freundlich F (sans dimension) sera essentiellement liée à la capacité maximale d'adhésion.

$$q_e = F C_e^{\frac{1}{n}} \quad Eq. II-3$$

Les valeurs de F et de n obtenues pour chacun des catalyseurs sont données dans le tableau II-2.

Tableau II- 2: Paramètres F , n du modèle de Freundlich obtenus pour les différents catalyseurs.

Catalyseur	n	F	ERM (%)
Media Ahlstrom	0.78	2.22	
Degussa P25	0.53	0.02	< 0.1
VP Aeroperl	0.54	0.41	

IV-3 Condition de mesure préalable aux expérimentations photocatalytiques : Concentration optimale en catalyseur

IV-3-1 Mode opératoire

La capacité d'absorption de la lumière par le photocatalyseur est déterminante au regard du mécanisme réactionnel lié à la production de radicaux hydroxyles. En effet, plus le flux de lumière absorbé est important, meilleurs est la réactivité du catalyseur et par suite son efficacité de traitement [Ollis et al., 1991 ; Herrmann, 1999 ; Pal et al., 2008 ; Kim et al., 2009]. Ainsi, de manière complémentaire et dans le but de valider expérimentalement la méthode optique présentée précédemment, l'efficacité de désinfection de la poudre de TiO_2 Degussa P25 est étudiée pour la même gamme de concentration choisie (0,1 à 3 g.L^{-1}) dans le montage de laboratoire. Ces expérimentations sont réalisées sur une suspension bactérienne d'*E. coli* initialement chargée à 10^7 NPP.L^{-1} et sous une densité de flux d'irradiation égale à 35 W.m^{-2} . Il s'agit de déterminer la concentration minimale en catalyseur permettant d'obtenir une vitesse maximale de décroissance bactérienne, puis de comparer cette concentration à la concentration optimale obtenue par la méthode optique.

IV-3-2 Résultats et discussion

La courbe de transmittance obtenue pour chacun des catalyseurs via la méthode optique permet de déterminer une concentration optimale en catalyseur dans le photoréacteur. Elle correspond à une concentration permettant de diminuer quasi complètement la transmittance du rayonnement sur le trajet étudié (10%). Pour le montage de laboratoire utilisé, la géométrie du réacteur irradié, de forme cylindrique, a un diamètre de 1.2 cm. Pour ce trajet optique, la corrélation obtenue entre la concentration du catalyseur et le trajet du rayonnement permet de calculer une concentration optimale en catalyseur Degussa P25 de l'ordre de 1.7 g.L^{-1} .

Par ailleurs, les profils de concentration des bactéries en début de phase d'inactivation sont traités selon une cinétique de pseudo premier ordre. La Figure II-13 présente les constantes de vitesse d'inactivation bactérienne initiale (pente à l'origine) obtenues en fonction des concentrations en catalyseur utilisées.

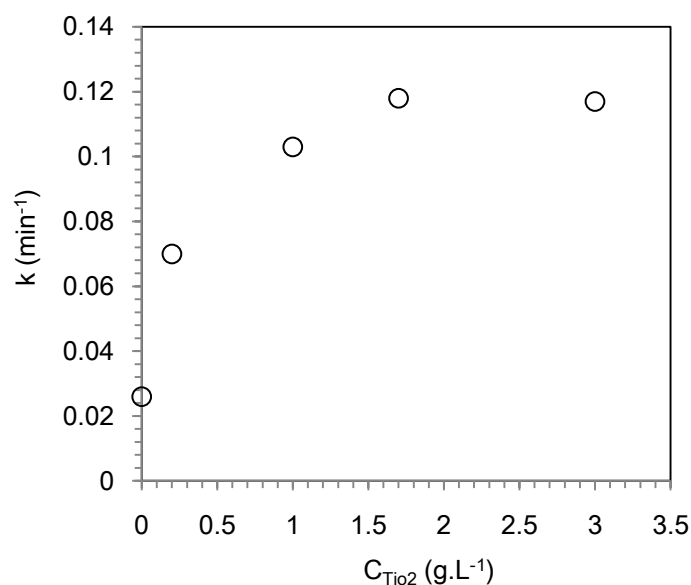


Figure II- 13: Evolution de la constante de vitesse d'inactivation bactérienne initiale en fonction de la concentration en TiO_2 Degussa P25.

Il apparaît que la cinétique initiale de l'inactivation bactérienne augmente en fonction de la concentration en TiO_2 jusqu'à atteindre un maximum correspondant à une concentration optimale en catalyseur de l'ordre de 1.7 g.L^{-1} . Au-delà de cette concentration, la vitesse de la réaction se stabilise, conformément à ce qui a été précédemment décrit dans le chapitre 1.

La valeur de la concentration optimale en catalyseur obtenue via la méthode optique correspond bien à celle obtenue expérimentalement.

IV-4 Expérimentations photocatalytiques sous irradiation artificielle

IV-4-1 Conditions d'expérimentations

Les expérimentations sous irradiations UV artificielles sont réalisées aussi bien en présence qu'en absence de catalyseur et pour différentes densités de flux lumineux comprises entre 5 W.m^{-2} et 35 W.m^{-2} . Dans le cas des expérimentations réalisées avec le TiO_2 supporté (media *Ahlstrom*), le média 2D est enroulé autour d'une tige de 5 mm de diamètre et positionné dans l'axe du réacteur. Le volume total du réacteur (0.09 L) est ajusté pour tenir compte de la présence de la tige. Dans le cas des expérimentations réalisées avec du TiO_2 en suspension, la masse de catalyseur optimale est préalablement mise en suspension dans un volume de solution saline de Ringer (20 mL). La solution de TiO_2 est traitée par sonication pendant 10

min afin de limiter la formation des agrégats puis rajoutée à un volume de 480 mL de suspension d'*E. coli* convenablement diluée. La solution finale obtenue, d'un volume total de 500 mL et de concentration en bactéries de l'ordre de 10^7 NPP.L⁻¹ est introduite dans le réacteur et est maintenue constamment agitée dans la cuve de stockage.

Sous condition d'irradiation, la conception du montage fait que la solution passe naturellement d'une zone irradiée (le réacteur) vers une zone sombre (le reste du montage). Ainsi, le temps de séjour sous irradiation (t_r) peut être déterminé en fonction du volume du réacteur (V_r) et du volume total (V_T) suivant l'équation II-4 :

$$t_r = \frac{V_r}{V_T} \cdot t \quad \text{Eq. II-4}$$

Où t est le temps total de l'expérimentation.

L'évolution de la concentration bactérienne dans la solution est suivie à partir d'un échantillonnage périodique de volume égal à 18mL. Avant toutes mesures, le catalyseur est systématiquement séparé de l'échantillon. Seule la charge microbienne contenue dans la phase liquide est alors prise en considération. Dans le cas particulier des catalyseurs en suspension, la séparation de la poudre est effectuée via une décantation spontanée sous l'effet de la gravitation. Cette décantation est d'autant plus favorisée par le pH de travail dont la valeur (pH=6.9) est intentionnellement choisie égale au PZC du TiO₂ (pH= 6.9). Le temps de décantation du catalyseur (20 min) est évalué de manière à récupérer 90% (valeur maximale) de la masse de poudre initiale dans chaque échantillon. Durant toutes les expérimentations, la température est stabilisée par une ventilation, gardant ainsi une valeur quasi constante de 25°C.

Les différentes conditions de mesure telles que la charge bactérienne initiale (C), la concentration en catalyseur (C_{TiO_2}), le volume total à traiter (V_T), le volume du réacteur (V_r), le rapport du volume irradié par le volume total (V_r/V_T), le volume d'échantillonnage (V_E), le pH et la température T sont récapitulées dans le tableau II-3.

Tableau II- 3: Conditions de mesures des expérimentations photocatalytiques sous UV artificielle

C (NPP.L ⁻¹)	C _{TiO2} (g.L ⁻¹)	I (W.m ⁻²)	V _T (L)	V _r /V _T	V _E (L)	pH	T (°C)
10 ⁷	1.66	5 - 35	0.5	0.18	0.018	6.9	25

IV-4-2 Influence de la photolyse directe

La photolyse constitue une des voies d'inactivation naturelle d'un microorganisme lorsque celui-ci est soumis à un rayonnement lumineux particulier ($200 \text{ nm} < \lambda < 700 \text{ nm}$). Les expérimentations menées pour quantifier l'importance du phénomène de photolyse sont réalisées sur une suspension bactérienne chargée à $3.5 \cdot 10^6 \text{ NPP.L}^{-1}$ et sous rayonnement UVA pour différentes densités de flux d'irradiation allant de 5 W.m^{-2} à 35 W.m^{-2} . Cette gamme de densité correspond approximativement à la gamme solaire. Les cinétiques de photolyse obtenues sont présentées sur la figure II-14, où la concentration bactérienne est rapportée en fonction du temps d'irradiation t_r (min).

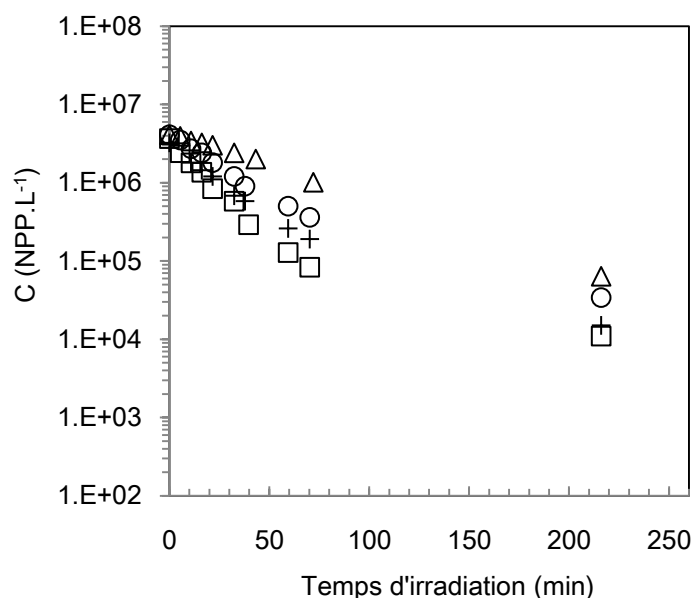


Figure II- 14: Inactivation par photolyse d'E. coli sous : $5 \text{ W.m}^{-2}(\Delta)$, $10 \text{ W.m}^{-2}(\circ)$, $20 \text{ W.m}^{-2}(\times)$, $35 \text{ W.m}^{-2}(\square)$.

Les profils obtenus mettent en évidence l'action directe du rayonnement UVA sur les cellules bactériennes. Les abattements obtenus par effet photolytique sont compris entre 1.8 et 2.5 log. En se référant à la littérature [Malato et al., 2009], l'effet bactéricide du rayonnement UVA est

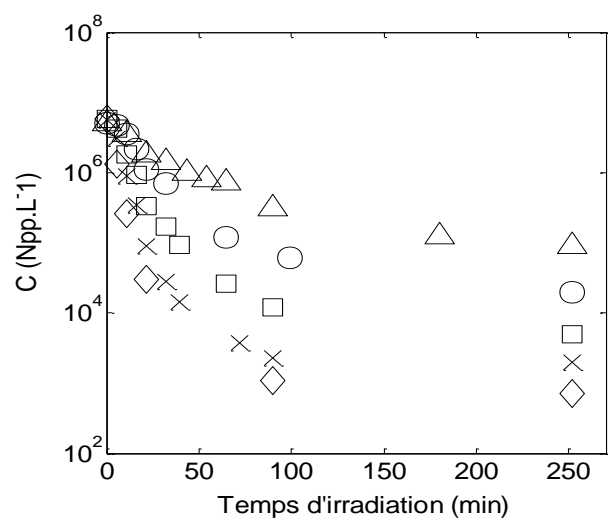
essentiellement rapporté à son absorption par des composés intracellulaires appelés chromophores et dont le plus connu est le L-tryptophane. Une fois absorbées, les irradiations UV contribuent, en présence d'oxygène, à la génération d'espèces oxydantes très réactives (ROS). Ces espèces induisent des stress oxydatifs au niveau de la membrane cellulaire et le reste des composantes intracellulaires, conduisant ainsi à l'inactivation du microorganisme.

IV-4-3 Influence du catalyseur

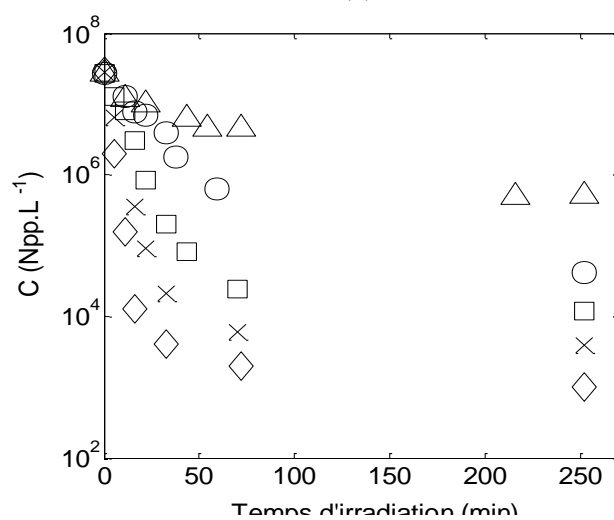
Les expérimentations portent sur l'utilisation de catalyseurs ayant des formes et des dimensions différentes, deux poudres de TiO_2 et un matériau supporté. Il est évident que l'utilisation d'un support pour déposer le TiO_2 est une alternative très intéressante afin d'éviter l'étape finale de séparation de la poudre. Cependant, la suspension permet une distribution homogène du catalyseur dans tout le volume réactif, développant ainsi une surface active supérieure à celle du catalyseur supporté. Afin de comparer les efficacités des catalyseurs dans des conditions de fonctionnement identiques, chacun des matériaux est préalablement mis en œuvre de manière à minimiser la transmittance du flux d'irradiation à travers le réacteur.

Les résultats d'inactivation bactérienne utilisant les différents catalyseurs sont présentés dans la figure II-15, où la concentration des bactéries C (NPP.L^{-1}) dans la phase liquide est reportée en fonction du temps d'irradiation t_r (min).

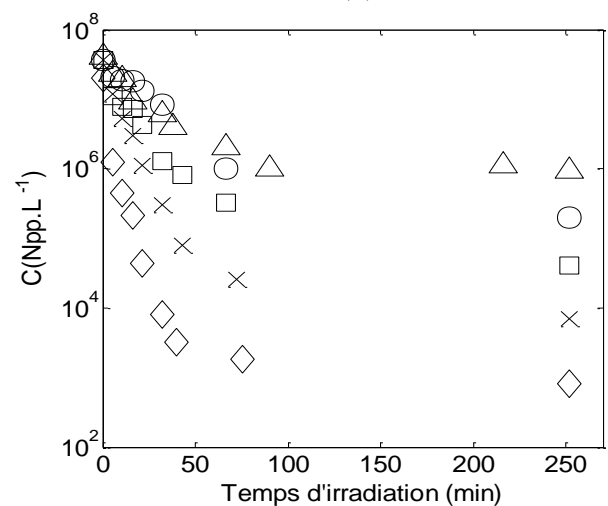
La diminution de la concentration bactérienne en absence d'irradiation met en évidence la coexistence du phénomène d'adhésion bactérienne parallèlement à la réaction photocatalytique. Cependant, les résultats montrent que l'effet de ce phénomène sur la décroissance bactérienne globale est relativement faible comparé à celui de la photocatalyse. Sous irradiation UV, comme attendu, les profils des concentrations bactériennes obtenus pour chacun des catalyseurs, mettent en évidence une relation directe entre le taux d'inactivation bactérienne et la densité de flux lumineux au cours du temps. Plus la densité d'irradiation est intense, plus le taux d'inactivation est important



(a)



(b)



(c)

Figure II- 15: Cinétiques d'inactivation photocatalytique d'*E. coli* utilisant le Degussa P25 (a), le VP Aeroperl (b), le média Ahlstrom (c), sous 0 W.m^{-2} (Δ), 5 W.m^{-2} (\circ), 10 W.m^{-2} (\square), 20 W.m^{-2} (\times), 35 W.m^{-2} (\diamond).

Dans l'ensemble, les profils présentent pratiquement la même tendance. En effet, indépendamment du matériau utilisé, deux régimes principaux sont observés: un premier régime log linéaire dépendant de la densité du flux lumineux et un deuxième régime décrivant une décélération finale du processus. En se référant aux régions log linéaires, il apparaît qu'indépendamment des conditions d'irradiation, tous les catalyseurs réussissent à inactiver 90% de la charge bactérienne initiale au bout d'une durée de réduction décimale (T_{90}) inférieure à 50 min. Cependant, la charge bactérienne initiale n'est pas dégradée en totalité. En effet, une limite asymptotique d'inactivation apparaît systématiquement. En se référant à la littérature, cette limite, connue sous le nom de 'la queue', est éventuellement due à une évolution de la résistance bactérienne vis à vis de l'effet bactéricide du traitement. Elle peut également être due à la formation de sous produits de dégradation qui, en occupant les sites actifs du catalyseur, rentrent en compétition avec les bactéries [Marugan et al., 2008].

IV-4-4 Comparaison de l'efficacité des catalyseurs

Pour les études réalisées en réacteur fermé, il est couramment admis que la détermination de la cinétique aux temps initiaux est un moyen rapide permettant de comparer l'efficacité de différents catalyseurs [Kim et al., 2002 ; Bouzaza et Laplanche, 2002 ; Raillard et al., 2005]. Cette approche est d'autant plus justifiée étant donné que les intermédiaires réactionnels ne sont pas encore formés en concentrations importantes. Les profils des concentrations en bactéries en début de phase d'inactivation sont ainsi traités selon une cinétique de pseudo premier ordre suivant l'équation II-5.

$$\frac{dC}{dt_r} = k(I)C \quad \text{Eq.II-5}$$

Où $k(I)$ (min^{-1}) est la constante cinétique initiale d'inactivation bactérienne supposée dépendante de la densité du flux lumineux I (W.m^{-2}) et C est la concentration bactérienne (NPP.L^{-1}) au cours du temps d'irradiation t_r (min).

Pour chaque densité de flux lumineux étudiée, l'expression du logarithme décimal du rapport C/C_0 (avec C_0 concentration initiale en bactéries) en fonction du temps d'irradiation est bien représentée par une droite comme le montrent les figures II-16 et II-17. Ces figures illustrent à titre d'exemple le cas du Degussa P25.

Le fait d'obtenir des droites valide la possibilité de représenter en tout début du traitement les profils de concentration par une loi cinétique de pseudo premier ordre selon la concentration. Pour une intensité donnée, la constante cinétique est directement identifiable par le coefficient directeur de la droite.

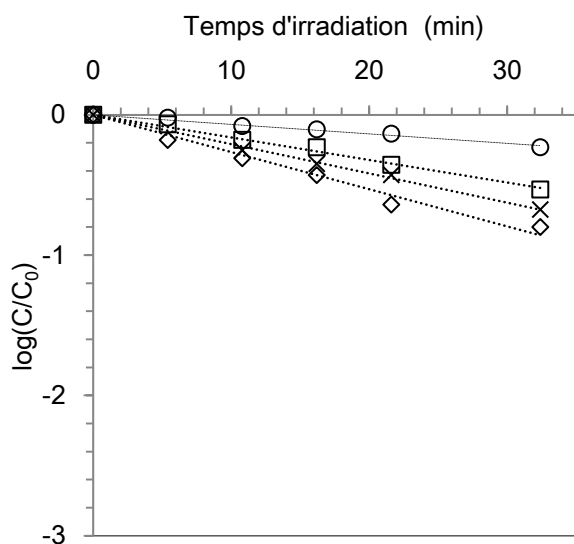


Figure II- 16: Cinétiques initiales de l'inactivation d'E. coli par photolyse sous densité de flux lumineux: 5 W.m^{-2} (\circ), 10 W.m^{-2} (\square), 20 W.m^{-2} (\times), 35 W.m^{-2} (\diamond).

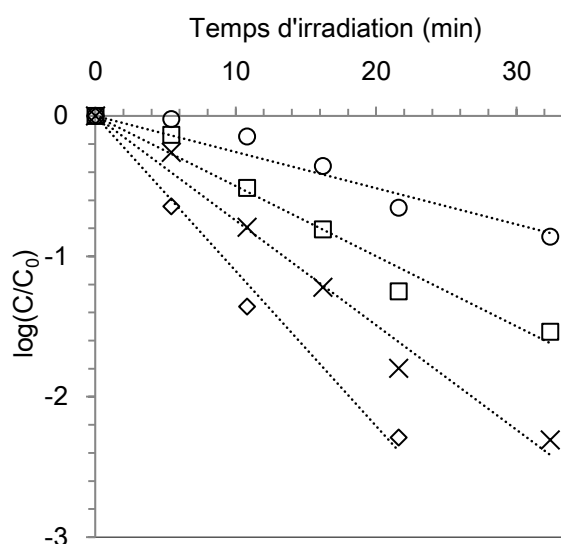


Figure II- 17: Cinétiques initiales de l'inactivation d'E. coli par photocatalyse utilisant le Degussa P25, sous densité de flux lumineux: 5 W.m^{-2} (\circ), 10 W.m^{-2} (\square), 20 W.m^{-2} (\times), 35 W.m^{-2} (\diamond).

Pour chacun des catalyseurs, les constantes cinétiques initiales d'inactivation bactérienne sont reportées dans la figure II-18 en fonction des conditions d'irradiation.

Les résultats présentés sur la Figure II-18 mettent en évidence une relation de linéarité entre les constantes cinétiques obtenues et la densité de flux lumineux appliquée. Les coefficients de corrélation R^2 obtenus entre une évolution linéaire de $k(I)$ de coefficient directeur α et les résultats expérimentaux sont systématiquement supérieures à 0.96.

Ces résultats montrent que la vitesse d'inactivation bactérienne initiale suit bien une relation d'ordre 1 avec la concentration et la densité de flux d'irradiation. Du fait de cette relation linéaire, il est possible d'exprimer la loi cinétique sous la forme suivante :

$$\frac{dC}{dt_r} = \alpha IC \quad \text{Eq.II-6}$$

Où α ($\text{m}^2 \cdot \text{J}^{-1}$) est un coefficient de corrélation entre la densité d'irradiation I ($\text{W} \cdot \text{m}^{-2}$) et la constante cinétique k (min^{-1}).

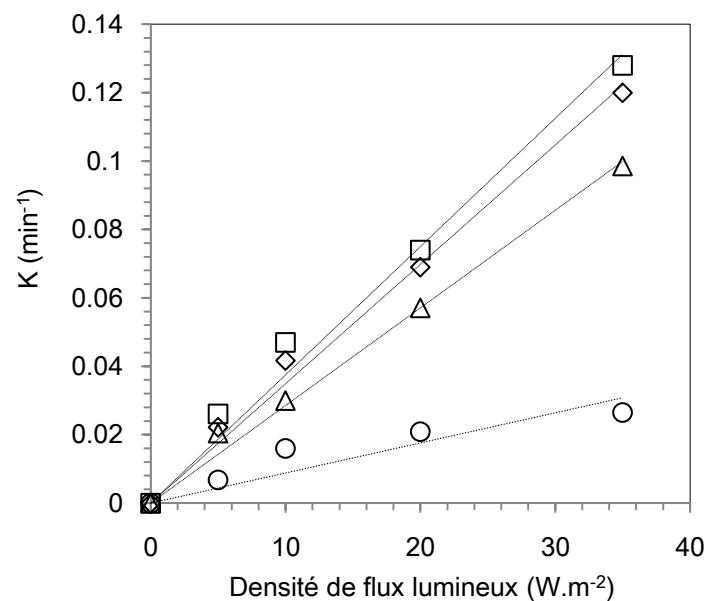


Figure II- 18: $k=f(I)$ en absence de catalyseur (photolyse) (\circ); utilisant le Degussa P25(\square), le VP Aeroperl (\diamond), le média Ahlstrom (\triangle).

Les valeurs de α correspondant à chacun des matériaux, sont résumées dans le tableau II-4.

En se basant sur ces constantes, il ressort que i) l'effet bactéricide photocatalytique est en moyenne 3.5 fois plus élevé que celui de la photolyse, ce qui met en évidence l'intérêt d'utiliser un catalyseur pour accélérer le processus d'inactivation, ii) les catalyseurs en suspension, se différenciant uniquement par leur granulométrie (rapport de taille 1000), révèlent des performances d'inactivation bactérienne similaires pour des valeurs de concentrations optimisées et iii) les performances du catalyseur supporté sont inférieures à celles des catalyseurs en suspension d'un facteur moyen égal à 1.5.

Tableau II- 4: Propriétés optiques et constantes cinétiques de corrélation en fonction du catalyseur utilisé: Transmittance (T_r); constante de corrélation linéaire par rapport à la densité du flux lumineux (α).

	T_r	Constantes cinétiques	
		$\alpha (10^{-4} \text{ m}^2 \cdot \text{J}^{-1})$	R^2
Degussa P25	0.1	35	0.99
VP Aeroperl	0.1	32	0.98
Media Ahlstrom	0.01	28	0.99
Photolyse	-	9	0.8

En termes de performances de désinfection, la suspension confirme son statut de référence par rapport au catalyseur supporté. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés dans la littérature [Rincon et Pulgarin 2003 ; Van Grieken et al. 2009 ; Ede et al., 2012]. La haute performance photocatalytique des particules de TiO_2 en suspension est due essentiellement à leurs surfaces spécifiques élevées, leur permettant de capter plus de rayonnement qu'un catalyseur supporté. Cette propriété a été déjà démontrée dans le cas de dégradation des molécules [Plantard et Goetz, 2014]. D'autres études rapportent cette différence de performance au mécanisme de dégradation qui peut différer selon la mise en forme du catalyseur : altération de certains sites actifs du catalyseur supporté lors de la formation des sous produit de dégradation ; modification potentielle des propriétés photocatalytiques du catalyseur supporté suite à sa fixation [Janin, 2012].

Bien que le media 2D est mis en œuvre dans une condition de fonctionnement optimale, son faible taux de recouvrement en catalyseur (20%) limite sa surface active totale, ne lui permettant ainsi que d'utiliser une proportion limitée du rayonnement totale absorbé. D'où sa performance inférieure à celle développée par les catalyseurs en suspension. Ces résultats sont intéressants dans la mesure où ils suggèrent des pistes d'optimisation pour les matériaux supportés tels que l'augmentation du taux de recouvrement du catalyseur ou l'amélioration des propriétés structurales du support afin de maximiser l'utilisation du rayonnement absorbé.

Cette étude basée uniquement sur la cinétique initiale d'inactivation bactérienne a permis d'estimer et de discrétiser l'efficacité de l'inactivation bactérienne de chaque catalyseur sous irradiation contrôlée. Il est démontré par suite, que les différents catalyseurs intégrés dans le

photo-réacteur fermé, développent, indépendamment de leur mise en forme, des performances initiales directement proportionnelles aux conditions d'irradiation. Par ailleurs, ces résultats offrent une piste pour améliorer les performances du couple média /procédé. Il ressort qu'il est primordial de mettre en forme des supports catalytiques développant de fortes surfaces de captation ou bien de configurer le procédé de manière à exploiter la totalité du rayonnement incident [Plantard et Goetz, 2014].

V- Modélisation de l'inactivation bactérienne par photocatalyse hétérogène

V-1 Dérivation du modèle cinétique

V-1-1 Bilans de matière

Dans une perspective de développement durable, la possibilité de combiner l'irradiation solaire et un semi-conducteur stable permet à la photocatalyse hétérogène d'être considérée comme une voie prometteuse pour la désinfection de l'eau. Cependant, la discontinuité de la ressource solaire est l'une des principales contraintes qui doit être prise en compte pour la conception et la gestion efficace du processus de traitement. Ainsi, en vue de concevoir une telle technologie à grande échelle, il est essentiel de disposer d'un outil de simulation capable de prédire le fonctionnement du processus pour la totalité de l'étape d'inactivation et sous différentes conditions d'irradiation.

Dans la littérature, de nombreux travaux traitent de la modélisation cinétique de la désinfection photocatalytique de microorganismes, dont *Escherichia coli* qui est, de loin, l'organisme le plus étudié [McCullagh et al., 2007 ; Malato et al., 2009]. Dans la plupart des cas, les profils de désinfection sont décrits avec succès par des modèles empiriques faisant intervenir des paramètres qui n'ont pas de signification physique ou chimique [Chick, 1908 ; Cho, 2003] ou par des modèles de type Langmuir-Hinshelwood directement inspirés des lois utilisées pour la minéralisation de polluants organiques [Marugan et al. 2008 ; Dalrymple et al. 2010].

Comme cela a été mis en évidence par les résultats expérimentaux précédemment acquis lors des expériences sous irradiation artificielle, il existe une réelle interaction entre les phénomènes d'adhésion et d'inactivation. La contrainte majeure liée à l'établissement d'un modèle de cinétique de désinfection est la difficulté à décrire correctement les interactions bactéries-catalyseur. Ainsi, il apparaît que la modélisation du phénomène de transfert de

masse des bactéries vers la surface du catalyseur, suivie de la réaction photochimique, doit être une partie intégrante dans la modélisation de la cinétique de dégradation bactérienne tout au long du temps de traitement.

La conception de l'installation expérimentale utilisée, ainsi qu'une série de résultats obtenus, justifient certaines hypothèses permettant de simplifier la mise en place d'un modèle d'inactivation. Compte tenu de la géométrie cylindrique du réacteur et au regard du fonctionnement de la boucle de traitement dans laquelle la suspension bactérienne est recirculée en permanence entre le réacteur éclairé et le réservoir de stockage non éclairé, il n'est pas nécessaire d'établir de bilans matière dans le sens radial. De manière équivalente, le bilan radiatif radial n'est pas effectué et l'on raisonne systématiquement à partir d'une valeur d'irradiation volumique moyenne à l'échelle du réacteur. Cette simplification n'est formellement complètement justifiée que dans le cas d'une dépendance linéaire de la vitesse d'inactivation du niveau d'irradiation.

Les mesures de concentrations bactériennes effectuées par prélèvement en entrée (C_e) et en sortie (C_s) du réacteur mettent en évidence un très faible gradient de concentration permettant d'assimiler le fonctionnement du réacteur à un réacteur parfaitement agité. Un bilan de matière simplifié peut ainsi être réalisé sur le réacteur puis, sur la cuve de stockage en fonction de la mise en forme de chacun des catalyseurs.

1^{er} cas de figure: catalyseur sous forme de poudre

Pour cette mise en forme, le phénomène d'adhésion est susceptible d'avoir lieu dans tout le volume du montage expérimental, contrairement à la réaction photocatalytique qui ne peut avoir lieu que dans le volume irradié (volume du réacteur). Le bilan de matière réalisé sur le réacteur puis, sur la cuve de stockage peut s'écrire alors suivant les équations II-7 et II-8 respectivement :

$$V_r \frac{dC_s}{dt} = \dot{m}C_e - \dot{m}C_s - V_r r_{adh} - V_r r_{ph} \quad Eq.II-7$$

$$V_{tank} \frac{dC_s}{dt} = \dot{m}C_s - \dot{m}C_e - V_{tank} r_{adh} \quad Eq. II-8$$

Où r_{adh} et r_{ph} ($NPP.L^{-1}.s^{-1}$) sont les vitesses d'adhésion bactérienne et de la réaction photocatalytique dans la phase liquide respectivement, C_e et C_s ($NPP.L^{-1}$) sont les

concentrations bactériennes en entrée et en sortie du réacteur respectivement, \dot{m} (L.s⁻¹) est le débit volumique dans le réacteur et V_r et V_{tank} sont les volumes du réacteur et du tank de stockage respectivement.

Considérant que les concentrations en entrée C_e et en sortie C_s sont quasiment identiques :

$$C_e \approx C_s = C \quad \text{Eq. II-9}$$

L'addition des équations II-10 et II-11, en tenant compte de l'équation II-8, simplifie le système et le réduit à un réacteur parfaitement agité.

$$\frac{dC}{dt} = -\dot{r}_{adh} - \frac{V_r}{V_T} \dot{r}_{ph} \quad \text{Eq. II-10}$$

Avec

$$V_T = V_r + V_{tank} \quad \text{Eq. II-11}$$

Où V_T (L) représente le volume total de la solution à traiter.

2^{ème} cas de figure : catalyseur supporté

Dans ce cas, le media 2D est fixé uniquement à l'intérieur du réacteur. Par suite, le phénomène d'adhésion bactérienne n'a lieu que dans le réacteur. Le bilan de matière réalisé sur le réacteur puis, sur la cuve de stockage peut s'écrire alors suivant les équations II-12 et II-13 respectivement :

$$V_r \frac{dC_s}{dt} = \dot{m}C_e - \dot{m}C_s - V_r \dot{r}_{adh} - V_r \dot{r}_{ph} \quad \text{Eq. II-12}$$

$$V_{tank} \frac{dC_s}{dt} = \dot{m}C_s - \dot{m}C_e \quad \text{Eq. II-13}$$

En tenant compte de l'équation II-9, l'addition des équations II-12 et II-13 simplifie le système et réduit le bilan total à l'équation II-14.

$$\frac{dC}{dt} = -\frac{V_r}{V_T} (r_{adh} + r_{ph}) \quad Eq. II-14$$

V-1-2 Vitesses d'adhésion et d'inactivation bactérienne

En absence d'irradiation, c'est seulement le phénomène d'adhésion qui intervient dans la décroissance globale des bactéries dans la phase liquide. Le mécanisme de transfert des bactéries de la phase liquide vers la surface du catalyseur puis, d'adhésion peut être décrit de manière efficace par le modèle simplifié de type LFD (Linear Driving Force). Ce formalisme est en effet largement utilisé avec succès dans la littérature pour le dimensionnement de procédés d'adsorption [Janin, 2012]. S'il représente une approximation forte lorsque la cinétique d'adsorption est dominée par le transport à l'échelle des micropores d'un adsorbant, il est tout particulièrement adapté au cas d'un phénomène d'adhésion qui s'effectue essentiellement en surface. Le modèle LDF, donné par l'équation II-15, est basé sur une vitesse de transfert et d'adhésion qui est le résultat d'un écart par rapport à des conditions d'équilibre entre bactéries en adhésion et bactéries en phase liquide et la valeur d'un coefficient de transfert global de matière.

$$r_{adh} = \frac{\partial \bar{q}}{\partial t} = K_s S_{cat} (q_e - q) \quad Eq. II-15$$

Où q et q_e ($NPP.m^{-2}$) sont respectivement les densités de bactéries adhérees par unité de surface de media photocatalytique à un temps donné et à l'équilibre, K_s (s^{-1}) est le coefficient global de transfert de matière (coefficient de LFD) et S_{cat} ($m^2.L^{-1}$) est la surface du catalyseur par unité de volume de solution à traiter.

Beaucoup d'efforts sont fournis pour définir des modèles spécifiques à la réaction photocatalytique due aux attaques des radicaux libres générées parallèlement à l'action photolytique de la lumière [Ollis et al., 1991 ; Herrmann, 1999 ; Pal et al., 2008 ; Kim et al., 2009 ; Malato et al., 2009]. La loi cinétique la plus fréquemment rapportée (utilisée notamment pour la comparaison des performances catalytiques des médias) est la loi de pseudo-premier ordre relative à la concentration bactérienne et dans laquelle la valeur de la constante k est directement proportionnelle à l'irradiation I ($W.m^{-2}$) (Equation II-6) [Chick, 1908].

D'autres auteurs [Li Puma et Yue, 1998 ; Emeline et al., 2000 ; Ollis, 2005 ; Mills et al., 2006] ont généralisé cette loi de pseudo-premier ordre en établissant une fonction puissance de l'intensité d'irradiation (Equation II-16).

$$r_{ph} = k \cdot C = (\alpha I^f) C \quad \text{Eq. II-16}$$

Où α ($\text{m}^2 \cdot \text{J}^{-1}$) est une constante cinétique liant la vitesse de réaction à la densité du flux lumineux et f (sans dimension) est un coefficient d'inhibition relative à l'existence potentielle d'un phénomène limitant comme par exemple la recombinaison des charges.

A l'heure actuelle, dans le cas de la minéralisation de polluants organiques, le mécanisme de dégradation photocatalytique ayant été le plus décrit dans la littérature se déroule suivant trois étapes principales: i) transfert des polluants vers la surface du catalyseur, ii) attaques radicalaires et iii) relargage des polluants dégradés vers la phase fluide. Ainsi, en vue de représenter la décroissance bactérienne globale, un couplage entre adhésion bactérienne et inactivation photocatalytique basé sur le même schéma est proposé.

Toujours dans le cas de la dégradation de polluants, si il existe aujourd'hui encore un débat pour déterminer si la réaction photocatalytique a lieu uniquement sur les espèces adsorbées sur la surface du catalyseur ou bien également sur les polluants au voisinage très proche du photocatalyseur, les deux mécanismes sont considérés comme effectifs [Turchi et Ollis, 1990 ; Lee et Choi, 2002 ; Thiebaud et al., 2010]. En effet, au vue de la littérature, il existe deux hypothèses sur la nature des radicaux formés, à savoir les radicaux qui restent liés à la surface du catalyseur pendant la réaction avec les espèces adsorbées [Matsunaga et al., 1985 ; Mills et Le Hunte, 1997] et les radicaux qui se détachent de la surface pour réagir avec les cibles à dégrader dans la phase liquide [Turchi et Ollis, 1990 ; Murakami et al., 2006 ; Thiebaud et al., 2010]. Afin de tenir compte de cette dernière possibilité, une loi cinétique représentative des attaques radicalaires sur des bactéries au voisinage du catalyseur est formalisée (Equation II-16).

En vue de représenter l'évolution de la décroissance globale des bactéries lors de la réaction photocatalytique, deux bilans de matière sont établis aussi bien sur la phase liquide que pour les bactéries en adhésion (surface catalyseur). En tenant compte de la mise en forme du catalyseur, les lois cinétiques d'adhésion r_{adh} et de réaction photocatalytique r_{ph} présentées

par les équations II-15 et II-16 respectivement sont retenues et intégrées dans l'une des équations de bilan de matière (Equation II-10 ou II-14) en fonction de la mise en forme du catalyseur utilisée (suspension ou supporté).

Ainsi, dans le cas d'un catalyseur en suspension, le système d'équations différentielles peut être exprimé suivant les équations II-17 et II-18 correspondant à l'évolution bactérienne dans la phase liquide et en adhésion.

$$\frac{dC}{dt} = -K_s S_{cat}(q_e - q) - \frac{V_r}{V_T} \alpha I_r^f C \quad \text{Eq. II-17}$$

$$\frac{dq}{dt} = K_s (q_e - q) - \frac{V_r}{V_T} \alpha' I_r^{f'} q \quad \text{Eq. II-18}$$

Dans le cas du catalyseur supporté, le système obtenu peut être exprimé suivant les équations différentielles II-19 et II-20

$$\frac{dC}{dt} = -\frac{V_r}{V_T} \cdot (K_s \cdot S'_{cat} \cdot (q_e - q) + \alpha \cdot I_r^f \cdot C) \quad \text{Eq. II-19}$$

$$\frac{dq}{dt} = K_s \cdot (q_e - q) - \alpha' \cdot I_r^{f'} \cdot q \quad \text{Eq. II-20}$$

Comme évoqué précédemment, l'intensité moyenne d'irradiation mesurée à la surface du réacteur I (W.m^{-2}) est rapportée par unité de volume irradié I_r (W.m^{-3}), grandeur moyenne considérée comme représentative du flux de photons disponibles pour réaliser l'opération d'inactivation.

La démarche retenue consiste à identifier, dans un premier temps et en absence d'irradiation ($I_r=0$), le coefficient de transfert de matière (K_s) pour chacun des matériaux photocatalytiques utilisés puis, d'identifier sous conditions d'irradiation variables ($I_r \neq 0$) les quatre constantes cinétiques α , α' , f et f' impliquées dans la cinétiques de réaction photocatalytique.

V-2 Validation du modèle cinétique

V-2-1 Validation sous irradiation artificielle

Le modèle adopté est basé sur un schéma réactionnel qui implique un couplage effectif entre l'inactivation bactérienne par attaques radicalaires qui intervient sous irradiation UV et le processus d'adhésion. Les simulations mises au point tiennent compte de ces deux phénomènes de base et sont comparées aux résultats expérimentaux aussi bien en absence qu'en présence d'irradiation.

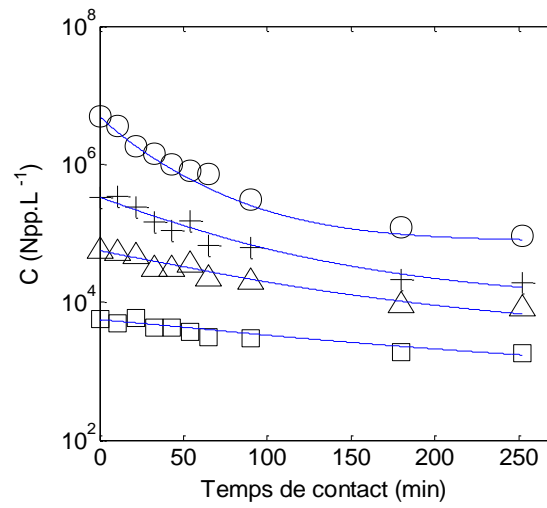
La détermination du coefficient de transfert de matière et des coefficients cinétiques intervenant dans les réactions photocatalytiques (qui donne accès notamment au profil de concentration en bactéries dans la phase liquide) est réalisée via la résolution des deux systèmes d'équations différentielles selon le cas de figure qui se présente et la minimisation de l'erreur relative moyenne (%) entre les concentrations théoriques C_i et expérimentales C_{exp} . La recherche des paramètres permettant la minimisation de ce critère est réalisée par une méthode d'optimisation (fminsearch) disponible sous Matlab.

En absence d'irradiation et pour chacun des catalyseurs utilisés, les résultats des simulations de l'adhésion bactérienne, exprimant les concentrations bactériennes d'*E. coli* C (NPP.L⁻¹) dans la phase liquide en fonction du temps de contact t (min) avec le catalyseur, sont présentés dans la figure II-19 pour des valeurs de coefficients de transfert K_s rassemblées dans le Tableau II-5.

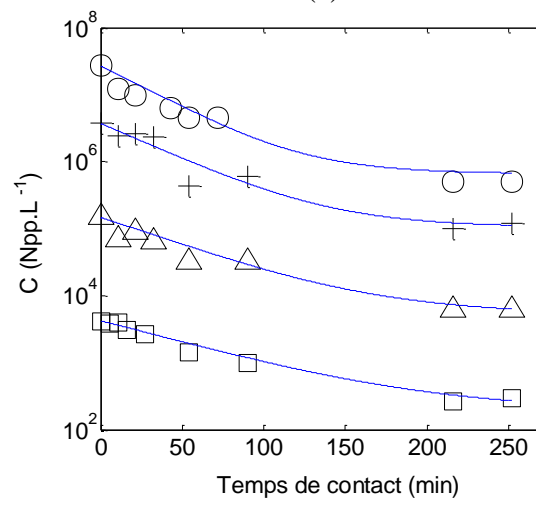
Tableau II- 5: Coefficients cinétiques d'adhésion bactérienne.

Catalyseur	$S_{cat} (m^2.L^{-1})$	$K_s (10^{-6} s^{-1})$	ERM (%)
Media Ahlstrom	0.013	0.54	8.1
Degussa P25	11.7	0.61	9.6
VP Aeroperl	2.3	1.6	9

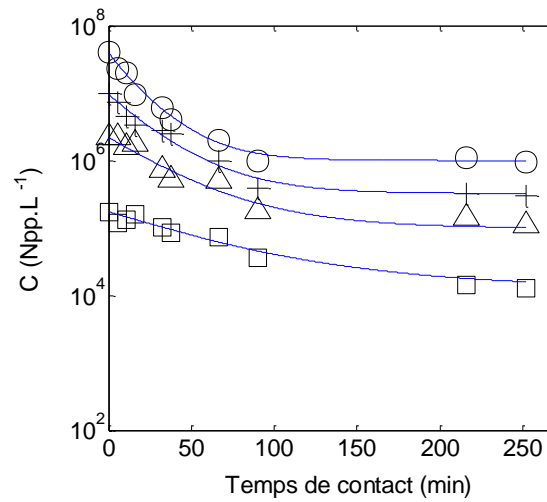
Les valeurs des erreurs relatives moyennes obtenues ($ERM \leq 9.6\%$) confirment que le modèle LFD utilisé pour décrire l'évolution de l'adhésion bactérienne au cours du temps est cohérent dans la gamme des concentrations étudiées et permet une approximation relativement satisfaisante des cinétiques d'adhésion. Les valeurs des coefficients K_s obtenues sont toutes du même ordre de grandeur (10^{-6}), due à la nature commune des catalyseurs utilisés (TiO₂).



(a)



(b)



(c)

Figure II- 19: Adhésion en absence d'irradiation, résultats de simulation (trait continu) utilisant le Degussa P25(a), le VP Aeroperl (b), le média Ahlstrom (c).

Les résultats des simulations de l'inactivation bactérienne dans différentes conditions d'irradiation sont présentés dans la figure II-20 pour des valeurs de constantes cinétiques rassemblées dans le Tableau II-6. La valeur du coefficient de transfert de matière (K_s) définie au préalable pour chaque catalyseur est directement intégrée dans le système d'équations différentielles en fonction de la forme du catalyseur.

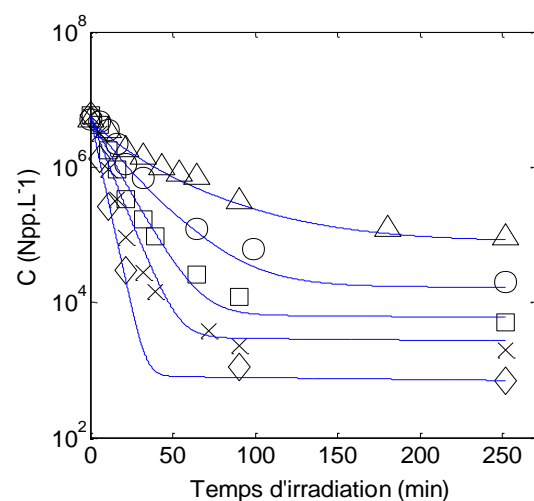
Tableau II- 6: Constantes cinétiques de dégradation photocatalytique pour les différents catalyseurs utilisés.

Catalyseur	α ($10^{-6} \cdot \text{m}^3 \cdot \text{J}^{-1}$)^{-f}	f	α' ($10^{-6} \cdot \text{m}^3 \cdot \text{J}^{-1}$)^{-f'}	f'	ERM (%)
Media Ahlstrom	10.2	1.2	6	0.064	9.8
VP Aeroperl	12.7	1.4	11	0.13	10
Degussa P25	12.5	1.2	14	0.36	8.5

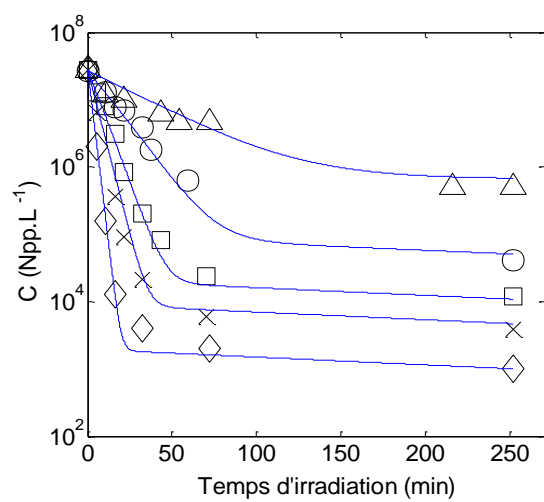
Les valeurs des erreurs relatives moyennes obtenues ($\text{ERM} \leq 10\%$) confirment que le modèle cinétique établi pour décrire l'inactivation bactérienne par voie photocatalytique est cohérent dans la gamme des densités de flux lumineux étudiée et permet une approximation relativement satisfaisante des cinétiques de décroissance bactérienne obtenues.

Au vu des résultats des constantes cinétiques, il ressort que les constantes α et f, décrivant la réaction photocatalytique dans la phase liquide, sont de valeurs similaires. Cette similarité est cohérente dans la mesure où elle confirme l'indépendance de la vitesse de la réaction photocatalytique dans la phase liquide vis-à-vis du catalyseur utilisé.

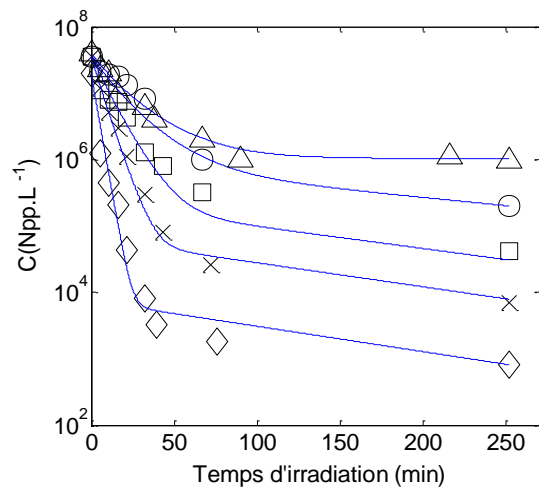
A l'opposé, les constantes α' et f' décrivant la réaction photocatalytique dans la phase en adhésion (surface du catalyseur) présentent des valeurs fortement dépendantes du matériau utilisé. Il ressort que i) les valeurs des constantes α' confirment la classification des catalyseurs précédemment établie en termes de réactivité photocatalytique. En effet, en phase d'adhésion, le catalyseur Degussa p25 développe la capacité d'inactivation la plus élevée, suivie du catalyseur VP Aeroperl puis du media 2D Ahlstrom et ii) les valeurs présentées par les constantes f' (<1) mettent en évidence l'existence probable d'un phénomène de limitation tels que le phénomène de recombinaison des charges électriques en surface.



(a)



(b)



(c)

Figure II- 20: Résultats de simulation de la dégradation photocatalytique (trait continu) utilisant le Degussa P25 (a), VP Aeroperl (b), média Ahlstrom (c) pour différentes densités de flux d'irradiation : 0 W.m^{-2} (Δ), 5 W.m^{-2} (\circ), 10 W.m^{-2} (\square), 20 W.m^{-2} (\times), 35 W.m^{-2} (\diamond).

V-2-2 Validation en fonction du volume total à traiter

Le modèle cinétique adopté s'inscrit dans la perspective de concevoir un outil de simulation capable de prédire le fonctionnement d'un procédé de désinfection par photocatalyse dans des conditions solaires et à une échelle plus importante (s'approchant d'un traitement solaire avec un réacteur directement positionné en sortie de station d'épuration). Pour que le changement d'échelle soit opérationnel, il apparaît nécessaire de vérifier d'une manière complémentaire la validité du modèle pour différents volumes de fonctionnement.

Par ailleurs, il est à rappeler que la conception du montage fait que la solution passe naturellement d'une zone irradiée (réacteur) à une zone sombre. Ainsi, la variation du volume total à traiter permet d'étudier aussi l'effet du temps de séjour dans la zone sombre sur la capacité de traitement de la bactérie. Ce temps (t_s) peut s'exprimer en fonction du temps total de traitement (t), du volume du réacteur V_r et du volume total de la solution à traiter (V_T) suivant l'équation II-21.

$$t_s = \left(1 - \frac{V_r}{V_T}\right) \cdot t \quad \text{Eq. II-21}$$

L'effet de la variation du volume à traiter sur l'inactivation bactérienne est étudié dans la boucle de laboratoire pour une durée d'irradiation de 35 min. Les expérimentations photocatalytiques sont réalisées sur une suspension bactérienne chargée à $\approx 10^7$ NPP.L⁻¹ en utilisant le catalyseur Degussa P25 et sous une densité de flux d'irradiation égale à 35 W.m⁻². La gamme des volumes étudiée varie entre 0.5 L et 5 L. Cette gamme correspond à un temps de séjour dans la zone sombre qui varie entre 82% et 98% du temps total de traitement.

La simulation des résultats expérimentaux est réalisée en intégrant directement les valeurs des constantes cinétiques K_s , α , α' , f et f' , identifiées précédemment, dans le système d'équations différentielles correspondant au cas d'un catalyseur en poudre.

Les simulations mises au point tiennent en compte du paramètre volume total à traiter et sont comparées aux résultats expérimentaux dans la figure II-21.

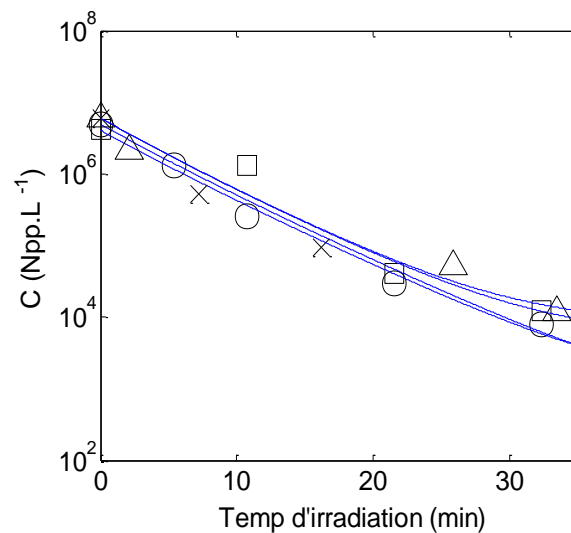


Figure II- 21: Evolution expérimentale et simulée (trait continu) de l'inactivation bactérienne au cours du temps d'irradiation utilisant le Degussa P25 en suspension et pour différents volumes traités: 0.5 L (○), 1 L (□), 3 L (×), 5 L (Δ).

Les profils de la décroissance bactérienne obtenus au bout de 35 min d'irradiation en fonction du volume traité évoluent d'une manière similaire et se superposent. Il ressort que le facteur volume à traiter n'influe que très partiellement sur la vitesse de l'inactivation bactérienne au cours du traitement. Cette configuration en mode batch et mettant en œuvre des volumes morts important n'est donc pas pénalisante et ne défavorise pas la capacité de traitement de la bactérie étudiée.

Par ailleurs, les résultats de simulation démontrent que, indépendamment du volume à traiter, le modèle adopté est capable de reproduire le fonctionnement du procédé d'une manière assez satisfaisante. La valeur de l'erreur relative moyenne entre les concentrations expérimentales et simulées obtenue ($\text{ERM} = 8.5\%$) valide le modèle dans la gamme des volumes étudiés.

V-3 Simulation de l'évolution bactérienne dans les phases liquide et en adhésion au cours de la réaction photocatalytique

La maîtrise de la cinétique d'inactivation bactérienne est une étape clef dans le dimensionnement d'un procédé de désinfection par photocatalyse hétérogène. Néanmoins cette tâche est d'autant plus difficile à réaliser dans la mesure où le résultat s'avère être le produit de deux phénomènes intervenants parallèlement, à savoir l'adhésion bactérienne et la

réaction photocatalytique subséquente. Ainsi, il est primordial de dissocier ces phénomènes afin d'évaluer leur taux de contribution relative dans le processus global de traitement.

La résolution du système d'équations différentielles permet d'avoir accès simultanément aux profils de concentration en bactéries dans les phases liquide et en adhésion à chaque instant. Ces profils de concentrations sont le reflet du couplage effectif des processus d'adhésion et d'inactivation. Ils permettent donc de véritablement mettre en évidence l'importance relative des deux mécanismes dans la disparition des bactéries de la phase liquide.

La figure II-22 présente les simulations réalisées en présence du catalyseur Degussa P25, dans le noir puis sous irradiation de 35 W.m^{-2} . La charge bactérienne initiale et le volume total à traiter sont respectivement fixés à $5.10^6 \text{ NPP.L}^{-1}$ et 1 L. Afin de pouvoir comparer l'évolution bactérienne dans chaque phase, les profils sont reportés en nombre de cellules bactériennes (NPP) en fonction du temps de résidence dans le réacteur t_r (min).

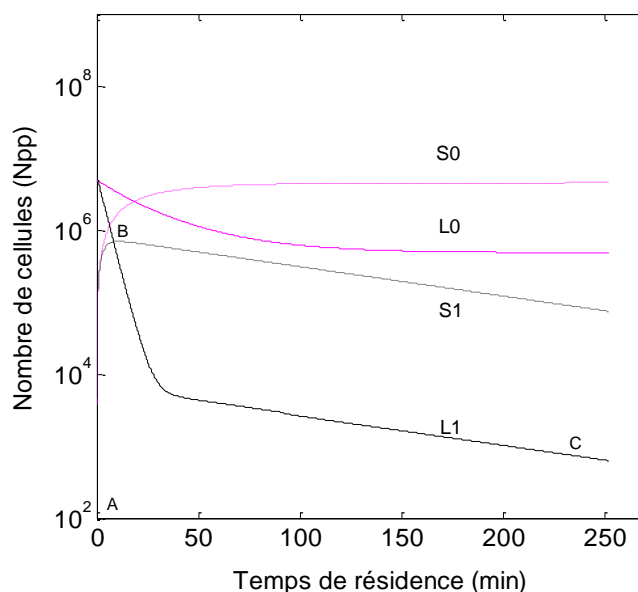


Figure II- 22: Simulation de l'évolution bactérienne au cours d'un traitement photocatalytique en fonction du temps de résidence dans la phase liquide : en absence d'irradiation (L0), en présence d'irradiation (L1) et dans la phase en adhésion : en absence d'irradiation (S0), en présence d'irradiation (S1).

La comparaison entre l'évolution bactérienne en absence et en présence d'irradiation met en évidence l'effet de l'irradiation sur la décroissance bactérienne aussi bien dans la phase

liquide que dans la phase en adhésion. Les résultats obtenus en absence d'irradiation montrent qu'au terme du traitement (250 min), la charge bactérienne dans la phase liquide (courbe L0) diminue approximativement de 1 log pour atteindre un palier traduisant un état d'équilibre entre les phases liquide et en adhésion. Ce résultat démontre une affinité non négligeable entre la bactérie étudiée et le catalyseur mis en œuvre. Cette décroissance est accompagnée par une croissance du nombre de bactéries en adhésion (S0). En réalisant un bilan de masse entre les deux phases, on démontre que, comme attendu, le nombre le plus probable des bactéries est quasi constant tout au long de l'expérimentation ($\approx 4.8 \cdot 10^6$).

Sous des conditions d'irradiation, les profils obtenus décrivent deux phases élémentaires. Au bout de 5% de temps total de traitement photocatalytique (1^{ère} phase dans du pt A au pt B), la charge bactérienne initiale dans la phase liquide (L1) diminue approximativement de 1 log. Cette décroissance est le résultat de l'effet conjugué de l'adhésion bactérienne et de la dégradation photocatalytique due aux attaques des espèces radicalaires. Néanmoins, l'évolution parallèle de l'adhésion bactérienne, décrite par la courbe S1, démontre que le transfert des bactéries vers la surface du catalyseur n'implique qu'une faible contribution dans la décroissance bactérienne dans la phase liquide. En effet, il apparaît que seulement 10% des bactéries initialement présentes dans la suspension sont transférées de la phase liquide vers la phase en adhésion. Ainsi, au vue de cette première phase, il peut être conclu que sous irradiation, la réduction bactérienne obtenue dans la phase liquide est due essentiellement à une inactivation photocatalytique et non pas au transfert des cellules bactériennes vers le support.

Au delà de 5% de temps total d'irradiation (2^{ème} phase du pt B au pt C), le nombre de bactérie dans la phase liquide continu, dans un premier temps, à décroître linéairement puis, tends vers le palier de stabilisation. Parallèlement, l'évolution bactérienne dans la phase en adhésion présente des valeurs quasi-stables jusqu'au bout de l'expérimentation, traduisant une faible activité photocatalytique vis-à-vis des bactéries à la surface du catalyseur. Ainsi, compte tenu des résultats de ces simulations, l'activité photocatalytique et le phénomène d'adhésion bactérienne soulignent que i) la contribution de l'adhésion bactérienne à la diminution globale de la charge bactérienne dans la phase liquide (10%) est plus faible que celle de l'activité photocatalytique, ii) la contribution de l'activité photocatalytique à l'inactivation bactérienne est significativement plus faible pour les bactéries en adhésion que pour les bactéries en phase liquide. Au vue de la littérature [Guo et al., 2000], cette faible incidence de la réaction photocatalytique sur les bactéries en adhésion peut être due à un taux de recombinaison de

charges élevé sur la surface du catalyseur et/ou à une forte accumulation de sous produits de désinfection adhérents au catalyseur. Ces résultats sont intéressants dans la mesure où ils mettent en évidence une présence bactérienne significative sur la surface du catalyseur au bout du traitement photocatalytique et suggèrent fortement que l'efficacité du traitement peut être dangereusement surestimée.

VI- Inactivation bactérienne sous irradiation solaire

Le transfert de la photocatalyse hétérogène sous irradiation UV artificielle vers une utilisation de l'énergie solaire s'inscrit pleinement dans le cadre du développement durable. Cependant, l'utilisation de l'énergie solaire pose deux sérieux inconvénients à savoir l'intermittence et la disponibilité de la ressource. En effet, les catalyseurs actuels ne sont sensibles qu'aux rayonnements des ultra-violets, soit à des longueurs d'onde inférieures à 400 nm. Or ce domaine, qui ne représente que 5% du spectre solaire, correspond à 50 W.m^{-2} . La modélisation de ce type de procédé, qui tient en compte de l'intermittence de la ressource, constitue, à ce titre, une étape essentielle dans la phase de développement vers une application à une échelle plus importante.

Les expérimentations de photocatalyse, menées précédemment sous des conditions d'irradiations contrôlées, ont mis en évidence les spécificités et les performances de différents catalyseurs sur l'inactivation de la bactérie *E. coli*. Elles ont donné lieu, par ailleurs, à la mise en place d'un modèle cinétique représentatif du fonctionnement des catalyseurs au sein du réacteur. Cette partie a donc un double objectif. Il s'agit de valider d'une part le modèle cinétique établi, permettant de prédire le fonctionnement du procédé photocatalytique dans des conditions solaires puis, de mettre en place des expérimentations solaires de manière à évaluer la capacité de traitement de la photocatalyse hétérogène en conditions dites 'réelles' de fonctionnement. Cette étape permettra notamment de mettre en avant l'effet de la nature de l'effluent sur l'efficacité de traitement.

VI-1 Le pilote

Le pilote solaire (Figure II-23) fonctionne en mode batch sur le même principe que le pilote sous éclairage artificiel [Correia et al., 2011]. Celui-ci est composé d'un réacteur tubulaire constitué de 10 tubes en verre borosilicaté ($L=1,5 \text{ m}$, $e=0,002 \text{ m}$, $\varnothing_{\text{int}}= 0,028 \text{ m}$). Ces tubes, transparents aux UV, développent un volume utile irradié de 6,5 L et sont reliés en série à une cuve d'une capacité totale de stockage de 20 L. Des réflecteurs de type CPC, d'un facteur de

concentration égal à 1, sont placés en face arrière des tubes constituant le réacteur, assurant l'homogénéité du rayonnement sur l'ensemble de la surface. Ces réflecteurs sont réalisés en aluminium poli (modèle *Bandboxal*). La surface d'ouverture de chaque réflecteur est de 0,14 m². La surface totale du réflecteur exposé au rayonnement solaire est donc de 1,4 m².

La circulation de l'effluent est assurée par une pompe centrifuge (*Verder*), régulée par un variateur de fréquence. Un débitmètre (*Brooks Instrument B.V*) est placé entre la sortie de la pompe et l'entrée du réacteur. Le suivi du rayonnement UV est assuré par une sonde (*Kipp and Zonen UV-A*) permettant de mesurer les densités de flux d'irradiation UV (W.m⁻²) sur le domaine de longueur d'onde allant de 300 à 400 nm.

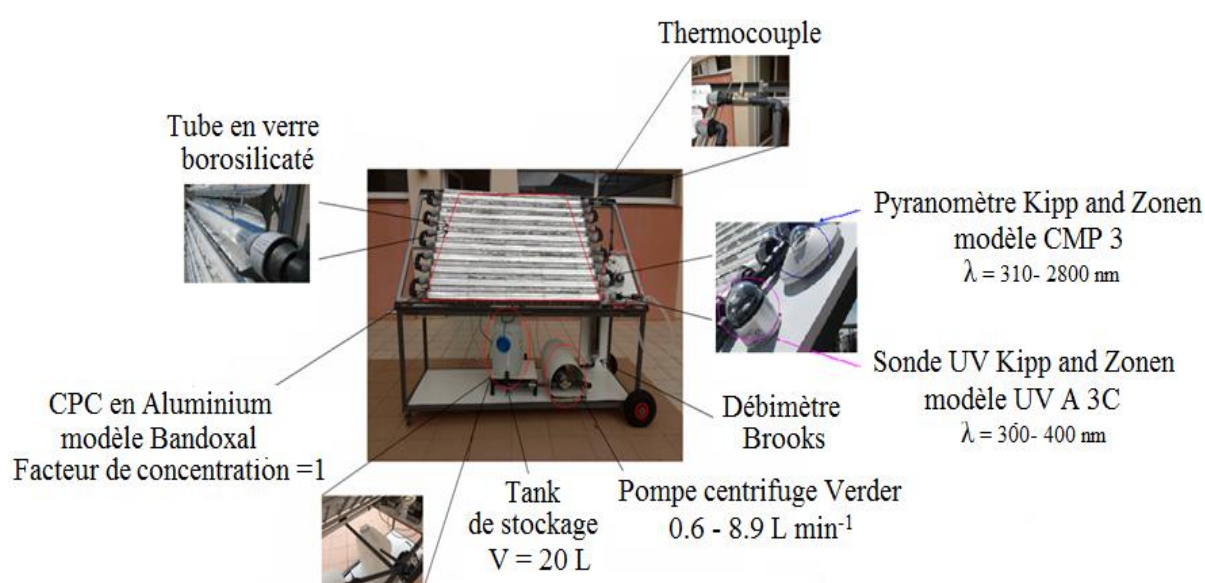


Figure II- 23: Pilote solaire.

Le suivi du rayonnement global est réalisé à l'aide d'un pyranomètre (*Kipp and Zonen modèle CMP 3*) mesurant sur un domaine de longueur d'onde allant de 310 à 2800 nm. Le suivi de la température de l'effluent est assuré par des thermocouples placés en entrée et en sortie du réacteur. Le pH est suivi à l'aide d'une sonde pH (*CONSORT*). Les mesures de la densité d'irradiation solaire sont réalisées toutes les 30 secondes. L'acquisition des données est assurée par le logiciel *Labview*.

L'échelle du banc solaire est nettement supérieure à celle du premier montage de laboratoire. Les caractéristiques des deux pilotes telles que le volume du réacteur (V_r), le volume total de la boucle (V_T), ainsi que la surface totale irradiée (S_r) sont présentés dans le tableau II-7.

Tableau II- 7: Comparaison entre les caractéristiques du montage de laboratoire et du pilote solaire.

Montage	Dimensions		
	V_T (L)	V_r (L)	S_r (m ²)
Pilote de laboratoire (P ₁)	1	0.09	0.03
Pilote solaire (P ₂)	15	0.65	1.5
Rapport P ₂ /P ₁	15	7.2	50

VI-2 Expérimentations photocatalytiques sous irradiation solaire

VI-2-1 Conditions expérimentales

L'inactivation bactérienne de la bactérie *E. coli* sous irradiation solaire est étudiée aussi bien dans la solution de Ringer (milieu pure) que dans un effluent réel. Les expérimentations photocatalytiques sont conduites dans le pilote solaire (exposé plein sud et inclinée à 45°) aussi bien en présence qu'en absence de catalyseur. Le catalyseur utilisé est le Degussa P25 en suspension. De la même manière que dans le montage de laboratoire, une concentration optimale en catalyseur (0.73 g.L⁻¹) est déterminée dans le réacteur. La masse de catalyseur est préalablement traitée par sonication durant 10 min dans un volume de 1 L de la solution de Ringer puis, injectée dans le réservoir du pilote. La solution finale obtenue dans le réservoir de stockage est d'un volume total de 15 L et de concentration en bactéries de 10⁷ NPP.L⁻¹. Sur le même principe que le montage de laboratoire, la conception du pilote fait que la solution, re-circulée en boucle fermée, passe naturellement d'une zone irradiée (le réacteur) vers une zone sombre (le reste du montage). Le temps de séjour sous irradiation (t_r) est déterminé par suite en fonction du volume du réacteur (V_r) et du volume total (V_t) suivant l'équation II-4. Tout au long des expérimentations, le pH et la température sont périodiquement contrôlés et affichent des valeurs dans une plage de (6.8 – 7.1) et (25°C – 40°C) respectivement.

VI-2-2 Influence de la source lumineuse

Il est admis que l'inactivation bactérienne par voie solaire se produit suite à un processus de photo-oxydation susceptible d'endommager l'ensemble paroi cellulaire, matériel génétique et protéines nécessaires à la survie du microorganisme [Ubomba-Jaswa et al., 2009]. Ce processus est étroitement lié au type et à la disponibilité de l'irradiation UV reçue. La lumière du soleil utilisée au cours du processus d'inactivation bactérienne se compose principalement

d'UVA (315 à 400 nm) et d'UVB (280 à 315 nm). Elle présente donc une différence du point de vue de la gamme spectrale par rapport à la lampe UVA (centrée sur 365nm) utilisée dans le montage de laboratoire. Ainsi, afin de valider le modèle cinétique défini sous des conditions d'irradiation artificielle, il est important de tester l'influence éventuelle du spectre de la source lumineuse sur le taux d'inactivation bactérienne.

Les résultats d'inactivation bactérienne d'*E. coli* obtenue par photolyse et par photocatalyse sous irradiation solaire sont présentés dans les figures II-24 et II-25.

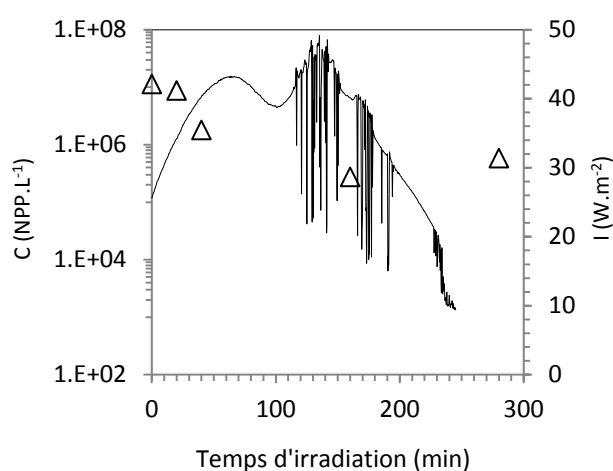


Figure II- 24: Inactivation d'E. coli par photolyse solaire au cours du temps d'irradiation dans la solution de Ringer ; profil de l'irradiation solaire (trait continu).

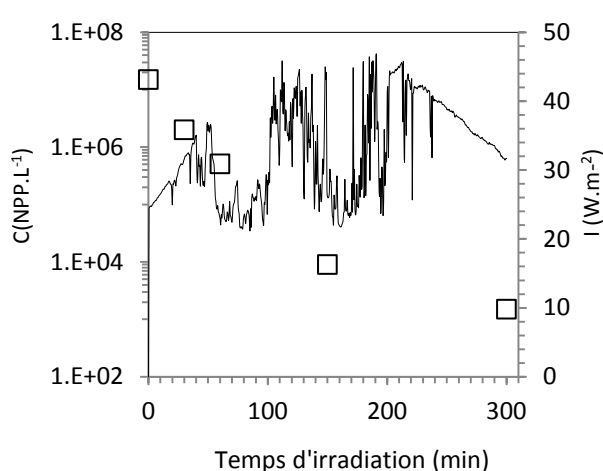


Figure II- 25: Inactivation d'E. coli par photocatalyse solaire au cours du temps d'irradiation dans la solution de Ringer; profil de l'irradiation solaire (trait continu).

Les courbes en continu représentent les densités de flux d'irradiation solaire acquises au cours d'une journée ensoleillée d'un mois estival. Ces densités oscillent globalement entre un minimum de 10 W.m^{-2} et un maximum de 45 W.m^{-2} , ce qui met en évidence l'aspect intermittent de la ressource solaire.

La décroissance bactérienne obtenue au cours du temps, aussi bien par photolyse que par photocatalyse, confirme la faisabilité de l'inactivation bactérienne par voie solaire. Les profils des concentrations dans les deux cas suivent une allure similaire à celle obtenue dans des

conditions d'irradiation contrôlées. Ces résultats mettent en évidence l'action directe de l'irradiation solaire sur l'inactivation bactérienne. Dans ce cas, la concentration bactérienne initiale décroît de $\approx 1.5 \log$ au bout de 4 h d'irradiation. Pour une même durée d'irradiation, la photocatalyse permet d'obtenir une réduction bactérienne de $\approx 4 \log$.

Ces taux de décroissance bactérienne sont comparables à ceux obtenus précédemment dans des conditions d'irradiation contrôlées ou ceux rapportés précédemment dans la littérature [Lonnen et al., 2005 ; Malato et al. 2009]. Cependant, compte tenu de la nature intermittente de la ressource solaire et la différence entre la gamme spectrale d'émission du soleil et de la lampe UV du montage de laboratoire, la comparaison directe des performances de la photolyse et la photocatalyse au cours du temps n'est pas adéquate. Cette comparaison directe est possible sous réserve d'exprimer les profils de concentration bactérienne en fonction de l'énergie Q_{uv} (kJ.L^{-1}) reçue au cours du temps d'irradiation. Cette grandeur peut s'exprimer suivant l'équation II-22 [Blanco et al. 2003]. Elle implique que la capacité du traitement peut être obtenue à partir de la connaissance de la quantité d'énergie lumineuse disponible sans distinguer le niveau de puissance à laquelle cette énergie est délivrée.

$$Q_{uv} = \frac{S_r}{V_T} \int_0^{t_r} I dt_r \quad \text{Eq. II-22}$$

Où S_r et V_T sont la surface irradiée et le volume total à traiter respectivement.

L'inactivation bactérienne par photolyse et photocatalyse obtenue aussi bien sous irradiation solaire que sous une densité de flux d'irradiation de 35 W.m^{-2} est présentée en fonction de l'énergie cumulée dans la figure II-26.

Les profils obtenus démontrent, indépendamment de la nature de la ressource lumineuse et de la densité de flux (diffus ou direct), l'effet dominant de la photocatalyse. En effet, pour une même quantité d'énergie reçue (50 kJ.L^{-1}), l'action de la photocatalyse est 2 fois supérieure à celle de la photolyse.

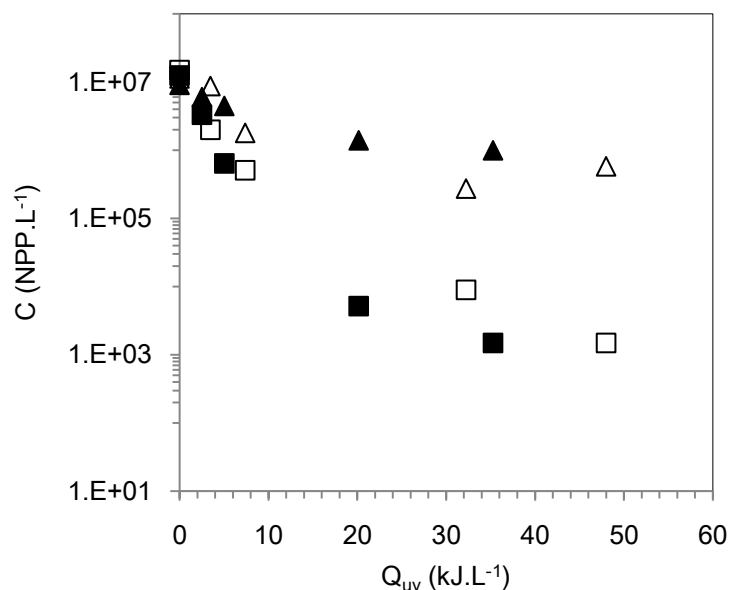


Figure II- 26: Inactivation d'*E. coli* par photolyse: sous UV artificielle (▲), sous UV solaire (△) ; par photocatalyse : sous UV artificielle (■), sous UV solaire (□).

Par ailleurs, il apparaît que l'inactivation bactérienne obtenue sous irradiation solaire est comparable à celle obtenue sous irradiation artificielle. Il peut être conclu par suite que le spectre d'émission lumineux de chacune des sources d'irradiation n'a pas d'influence significative sur l'inactivation bactérienne au cours de la durée de traitement.

VI-3 Validation du modèle cinétique sous irradiation solaire

Les expérimentations de photocatalyse menées précédemment dans le montage de laboratoire ont permis d'établir un modèle cinétique représentatif de l'inactivation de la bactérie *E. coli* sous différentes conditions contrôlées. En vue de tester la validité et la robustesse du modèle adopté dans des conditions réelles, l'inactivation bactérienne photocatalytique obtenue par irradiation solaire est simulée en intégrant directement les coefficients cinétiques définis sous irradiation contrôlée dans le système d'équations différentielles Equation. II-17 et Equation II-18. La simulation mise au point tient en compte du paramètre densité de flux d'irradiation et est comparée au résultat expérimental dans la figure II-27.

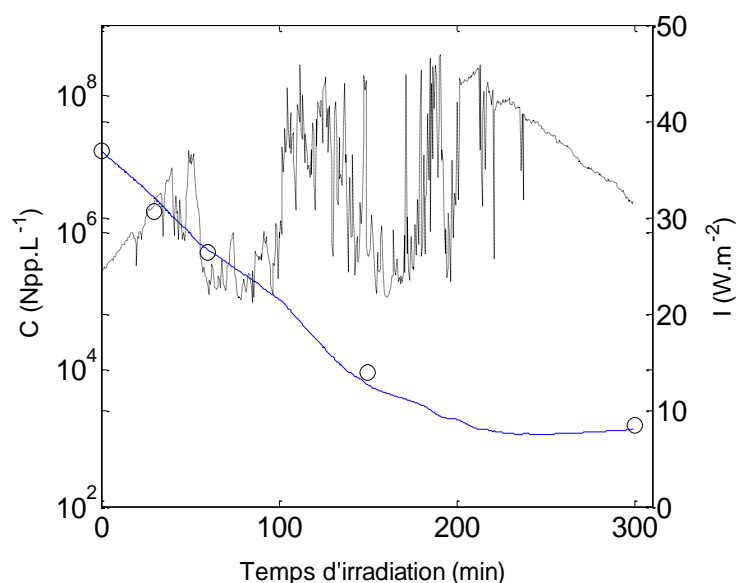


Figure II- 27: Evolution expérimentale (o) et simulée (trait continu) de la dégradation bactérienne au cours du temps d'irradiation utilisant le Degussa P25 en suspension et sous irradiation solaire ; Densités de flux d'irradiation solaire (trait discontinu).

Le profil de simulation obtenu démontre que le modèle cinétique permet une approximation relativement satisfaisante des cinétiques de décroissance bactérienne. La concordance obtenue entre les valeurs simulées et expérimentales (ERM = 8.5%) valide le modèle cinétique et démontre qu'il est capable de traduire d'une manière assez satisfaisante le fonctionnement du procédé dans des conditions solaires et à une échelle importante.

VI-4 Performance de la photocatalyse hétérogène solaire pour le traitement d'un effluent réel

Les travaux effectués dans ce chapitre ont permis d'évaluer la capacité de la photocatalyse hétérogène à inactiver la bactérie *E. coli* en suspension dans une solution de Ringer pure et ceci sous des conditions d'irradiation aussi bien artificielle que solaire. En vue d'étendre ces résultats au traitement d'effluents plus complexes, des essais de photolyse et photocatalyse solaires et utilisant le catalyseur Degussa P25 sont menés sur la bactérie *E. coli* inoculée dans un effluent réel (issu de la sortie de la STEP de Perpignan). Dans cette partie, la bactérie est inoculée à une concentration initiale de 10⁷ NPP.L⁻¹ dans deux types d'effluents. Le premier est l'effluent réel préalablement stérilisé à 121°C pendant 20 min afin d'éliminer toutes traces de flore microbienne endogène. Le deuxième est l'effluent réel conservé à l'état brut. La finalité de l'utilisation de ces deux effluents est d'apprécier l'influence des propriétés du

milieu seul (MES, pH, composition) sur le taux d'inactivation bactérienne par voie photocatalytique solaire puis, d'estimer l'efficacité du traitement dans des conditions réelles. Les expérimentations sont conduites dans le pilote solaire durant une journée ensoleillée et aussi bien en présence qu'en absence de catalyseur.

Les taux d'inactivation bactérienne obtenus par photolyse et photocatalyse dans les deux effluents réels sont comparés à ceux obtenus précédemment dans la solution de Ringer et sont reportés dans la figure II-28 et la figure II-29 respectivement.

Les profils de décroissance bactérienne démontrent que le traitement d'*E. coli* par photolyse et photocatalyse est effectif dans les effluents réels étudiés. Au bout d'une journée d'irradiation, les taux de réduction bactérienne atteints par photolyse et photocatalyse sont respectivement de 1 log et 3 log. Par ailleurs, il s'avère que, indépendamment du mode de traitement utilisé, la capacité d'inactivation de la bactérie *E. coli* est étroitement dépendante du milieu traité.

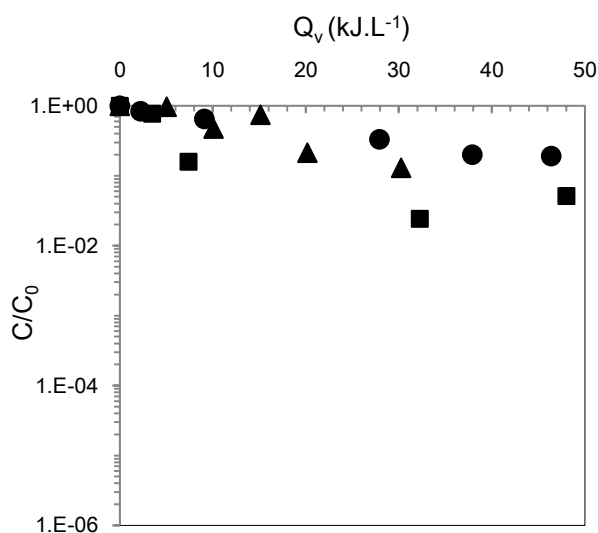


Figure II- 28: Inactivation d'*E. coli* par photolyse en fonction de la nature de l'effluent traité : solution de Ringer (■), effluent réel stérile (●), effluent réel brut (▲).

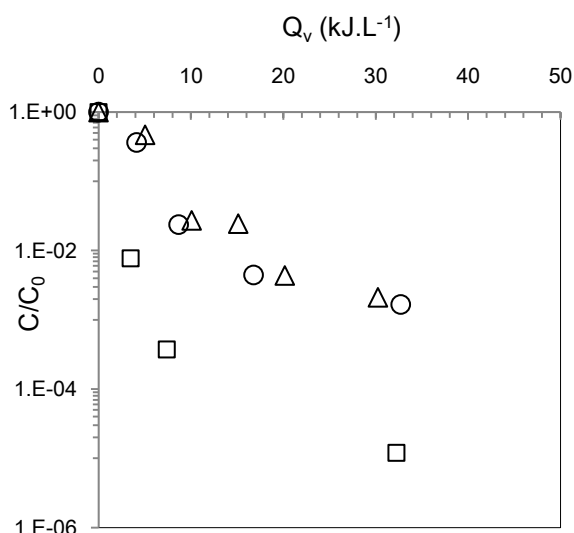


Figure II- 29: Inactivation d'*E. coli* par photocatalyse utilisant le Degussa P25 en fonction de la nature de l'effluent traité : solution de Ringer (□), effluent réel stérile (o), effluent réel brut (Δ).

En effet, pour une même quantité d'énergie absorbée, les taux de réduction bactérienne obtenus dans la solution de Ringer sont plus importants que ceux obtenus dans les effluents réels. Des résultats comparables sont mis en avant dans la littérature [Hermann et al.,1993]. Selon Hermann et al., l'inactivation bactérienne dans un effluent réel peut être inhibée par la présence de matières en suspension (autre que les bactéries cibles) susceptibles de limiter la diffusion de l'irradiation dans le milieu réactif traité. D'autres parts, la présence de minéraux à caractère électrostatique attractif ou répulsif (SO_4^{2-} , HCO_3^- , Ca^{2+} , Na^+ et Mg^{2+}) dans les effluents réels peut avoir pour effet de limiter l'interaction entre les bactéries cibles et le catalyseur, inhibant par suite la réaction d'inactivation bactérienne. Dans une autre étude [Bekbölet et Balcioglu, 1996], il apparaît que certains anions tels que les bicarbonates (HCO_3^-) peuvent piéger des espèces réactives comme les radicaux hydroxyles OH^\bullet . Cette combinaison donne lieu par la suite à des carbonates ($\text{CO}_3^{\bullet-}$) à caractère moins actif et limite la réaction d'inactivation bactérienne.

Au vue de ces résultats, il apparaît que la capacité d'inactivation de la bactérie *E. coli* par voie photocatalytique est relative au milieu de traitement. Ainsi, il peut être conclu que la composition du milieu représente un facteur limitant devant être impérativement pris en compte lors du dimensionnement d'un procédé de traitement par photocatalyse dans des conditions réelles. Il apparaît également que la transposition des résultats acquis dans le cas d'un milieu modèle (bactéries en suspension dans une solution de Ringer) vers un effluent réel est loin d'être trivial. La variabilité et la complexité de la composition des effluents réels rendent cette tâche d'autant plus difficile et freinent à ce jour le passage de ce procédé à l'échelle industrielle. Ainsi, une étude à part entière qui constituera une prolongation du travail réalisé dans le cadre de ce chapitre est nécessaire

Conclusion

La finalité de ce travail a été de définir les conditions de fonctionnement et les performances d'un procédé de désinfection par voie photocatalytique appliqué à une bactérie de référence, *E. coli*. L'acquisition d'un ensemble de données expérimentales suffisamment représentatives a permis une comparaison directe des performances de différents catalyseurs à base de TiO_2 en termes de cinétiques d'adhésion bactérienne et de dégradation photocatalytique. Au-delà de cette comparaison, ces travaux avaient pour objectifs d'évaluer l'affinité de la bactérie cible vis-à-vis des différents médias puis, de définir un modèle mathématique représentant le

fonctionnement d'un pilote de désinfection bactérienne par voie photocatalytique sous différentes conditions de fonctionnement.

Dans cette étude, trois catalyseurs à base de TiO_2 ont été retenus, à savoir le TiO_2 Degussa P25, le TiO_2 VP Aeroperl P25/20 présentés sous forme de poudre et le média Ahlstrom Grade 1048 présenté sous forme de catalyseur supporté. Préalablement aux expérimentations photocatalytiques, une étape préliminaire d'optimisation de la mise en œuvre dans le cas des suspensions a été réalisée. Il s'agissait de déterminer la concentration en catalyseur permettant de limiter la transmittance du rayonnement incident à la surface du réacteur à une valeur maximum de 10 %.

Les expérimentations photocatalytiques ont tout d'abord été réalisées dans un montage de laboratoire et dans des conditions d'irradiation UV contrôlées dans le but d'étudier l'efficacité bactéricide des différents catalyseurs. La méthodologie suivie a consisté à étudier les propriétés d'adhésion bactéries/matériau en fonction des différentes mises en forme. Pour chaque matériau, une courbe d'équilibre d'adhésion a été définie. Ceci a permis de mettre en évidence la réalité du phénomène d'adhésion puis, de quantifier sa participation à la baisse de la concentration bactérienne lors des essais de désinfection.

Les cinétiques d'inactivation ont été systématiquement déterminées expérimentalement pour les différentes formes de catalyseurs sur une gamme d'irradiations allant de 5 à 35 W.m^{-2} . Les résultats obtenus ont convergé vers ceux rapportés dans la littérature, dans la mesure où les performances de désinfection des suspensions (Degussa P25 et VP Aeroperl) ont été supérieures à celles du catalyseur supporté. En termes d'efficacité de désinfection, ceci a permis de mettre en avant le rôle déterminant du paramètre surface spécifique dans le cas des catalyseurs en poudre et celui du taux de recouvrement dans le cas du catalyseur supporté.

L'ensemble des cinétiques recueillies a permis de définir et d'identifier les paramètres cinétiques clefs permettant de simuler les profils de concentrations en bactéries dans la phase liquide : i) sous différentes conditions d'irradiation et ii) pour les différents couples bactéries/catalyseur. Ainsi, grâce à un traitement numérique, une loi cinétique reproduisant l'évolution des concentrations de la bactérie étudiée au cours de la réaction photocatalytique a été établie. Cette loi implique un couplage entre deux phénomènes de base qui coexistent, le phénomène d'adhésion bactérienne et la réaction photocatalytique subséquente. Le but de ce couplage n'était pas d'établir une loi cinétique exacte qui nécessiterait, par ailleurs, la définition du profil local de l'irradiation dans le volume réactionnel. Il s'agissait de s'appuyer

sur différentes lois cinétiques présentes dans la littérature afin de suggérer un modèle basé sur des hypothèses et simplifications raisonnables permettant de représenter au mieux le processus d'inactivation bactérienne par photocatalyse hétérogène.

Une fois validé, le modèle cinétique établi a permis de mettre en place des simulations de l'évolution bactérienne au cours d'un traitement photocatalytique, aussi bien dans la phase liquide que dans la phase en adhésion. Ces simulations ont permis de dissocier les phénomènes qui coexistent puis, d'évaluer leur contribution relative dans le processus global d'inactivation bactérienne. En donnant l'accès simultanément aux profils de concentration en bactéries dans les phases liquide et en adhésion à chaque instant, le modèle adopté a mis en évidence la présence d'une charge bactérienne significative sur la surface du catalyseur au bout du traitement photocatalytique et suggère fortement que le traitement photocatalytique peut être dangereusement surestimé.

La deuxième partie de ce chapitre a consisté en l'étude de l'inactivation bactérienne dans des conditions s'approchant d'un traitement solaire avec un réacteur directement positionné en sortie de station d'épuration. Cette partie relève d'un double objectif, à savoir de valider le modèle défini dans des conditions contrôlées à plus grande échelle et sous rayonnement solaire puis, d'estimer l'influence du milieu de traitement sur le taux d'inactivation bactérienne. Les expérimentations ont été réalisées dans un réacteur solaire fonctionnant en mode batch et faisant intervenir des volumes de traitement plus importants. Au vue des résultats obtenus, il est ressorti que dans le cas d'une opération d'inactivation des bactéries dans une solution de Ringer pure, le transfert du traitement photocatalytique d'une petite échelle vers une échelle plus importante a été opérationnel et a mis en évidence la faisabilité de l'application d'une telle technologie sous des conditions de rayonnement solaire. Par ailleurs, le modèle cinétique établi sous irradiation UV artificielle a été validé dans des conditions solaires. Ce modèle offre ainsi la possibilité de prédire et dimensionner le fonctionnement du procédé de traitement photocatalytique à plus grande échelle et sous conditions d'irradiation variables. A contrario et comme attendu, le traitement d'un effluent réel dépend étroitement de sa composition souvent complexe. Ainsi la transposition des résultats acquis dans le cas d'un milieu modèle (bactéries en suspension dans la solution de Ringer) vers un effluent réel est loin d'être trivial et nécessitera une étude à part entière qui constituera une prolongation du travail réalisé dans ce chapitre.

CHAPITRE III Inactivation d'*Escherichia coli* par photocatalyse hétérogène dans un réacteur ouvert

Introduction

Bien qu'un grand nombre d'études aient démontré que la photocatalyse hétérogène (UVA-TiO₂) est efficace pour l'inactivation de la bactérie *E. coli* [Bekbolet et Araz, 1996; Huang et al., 2000; Liu et Yang, 2003; Kuhn et al., 2003], la plus part des expérimentations photocatalytiques ont été conduites sur des procédés discontinus (mode Batch) et utilisant des catalyseurs (ex. TiO₂) sous forme de nano-poudre. Ces systèmes batch offrent de nombreux avantages, tels que la possibilité de travailler à petite échelle (faibles volumes d'eau) et dans des conditions contrôlées. Ainsi, ils permettent une bonne compréhension des mécanismes de désinfection mis en œuvre et une bonne maîtrise du traitement au cours du temps. Cependant, les résultats obtenus dans les systèmes batch ne peuvent pas être directement transposés à des procédés dits réels : fonctionnement en mode continu, configuration, géométrie, volumes différents. Les vitesses de désinfection sont également difficiles à extrapoler à des opérations de traitement plus pratiques (évolution de la population cible, présence évolutive des cibles dégradées, inactivées..). De plus, l'utilisation du catalyseur en suspension, implique inévitablement une contrainte technique liée à la récupération de la poudre dans l'effluent traité. Ainsi, le développement de procédés de désinfection par voie photocatalytique en mode continu et mettant en œuvre des catalyseurs supportés correspond véritablement à un grand enjeu scientifique.

A ce jour, la majorité des études portant sur la dépollution de l'eau en mode continu, met en œuvre des traitements, essentiellement, par voie chimique (ex. chloration, ozonation) [Pfeiffer et Barbeau, 2014] ou physique (rayonnement UVC et le rayonnement solaire) [Gill et McLoughlin, 2007 ; Gill et Price, 2010 ; Mbonimpa et al. 2012]. Le traitement de l'eau par voie photocatalytique en mode continu a fait également l'objet de différentes études [Matsunaga et al., 1988 ; Gill et McLoughlin, 2007 ; Pal, 2007] mais reste moins abordé [Dalrymple, 2011]. Dans ce contexte, on se propose d'étudier l'inactivation de la bactérie *E. coli* dans un procédé de traitement photocatalytique en utilisant un catalyseur supporté et en mode continu : alimentation et soutirage d'un débit constant de solution. Les expérimentations photocatalytiques réalisées dans cette étude ont pour vocation d'apporter des informations complémentaires sur les étapes du processus de désinfection (phase d'adhésion, inactivation). D'autre part, il s'agit de recueillir les cinétiques d'inactivation bactérienne dans des conditions maîtrisées afin d'évaluer le potentiel de la photocatalyse pour une application de

désinfection en flux continu. La finalité est de pouvoir proposer un dimensionnement de procédé fonctionnant en régime permanent.

Ce chapitre débute par la présentation du réacteur fonctionnant en mode continu ainsi que sa mise en route. Le choix s'est porté vers un catalyseur supporté, l'Ahlstrom Grad 1048 commercialisé par la firme papetière *Ahlstrom*, afin d'éviter la séparation (post-traitement) eau/catalyseur. Les caractéristiques de ce média ont été décrites précédemment [Correia, 2011].

Les conditions de fonctionnement seront définies pour évaluer les phénomènes parasites (adhésion à la surface du montage, effet de photolyse...) et définir les caractéristiques du montage (temps de séjour, volume mort). Il s'agit d'évaluer l'effet du phénomène d'adhésion bactérienne et l'action directe de la photolyse dans le processus global de désinfection. Ensuite, l'étude vise à étudier l'action de la photocatalyse sur la décroissance bactérienne en régime permanent en fonction des principaux paramètres opératoires qui régissent le processus de désinfection : la densité de flux d'irradiation et le temps de séjour moyen du procédé. La gamme des densités d'irradiation étudiée, se situant entre 5 W.m^{-2} et 35 W.m^{-2} , correspond approximativement à la plage de densité de flux de l'irradiation solaire sur une journée d'ensoleillement. Les temps de séjour moyen dans le système étudié sont compris entre 4.16 h et 10 h. Ils correspondent à l'ordre de grandeur de temps de séjour en station d'épuration. Pour cette étude, la loi cinétique établie dans le chapitre précédant (en mode batch) est utilisée pour décrire les profils d'inactivation de la bactérie cible. Il s'agit de valider cette loi qui implique un couplage entre deux phénomènes coexistant, à savoir le transfert de masse (adhésion bactérienne) et la réaction photocatalytique d'inactivation. La démarche suivie consiste à extrapoler la loi cinétique établie en mode batch au mode continu afin de prédire le fonctionnement du procédé en régime permanent. A terme, la finalité est de prédire les performances de désinfection du procédé continu sur des temps représentatifs (journée, mois, année). Cela permettra, à partir de simulations, de dimensionner un démonstrateur de désinfection des eaux résiduaires en sortie de STEP à plus grande échelle et dans des conditions de fonctionnement réelles (conditions solaires).

I- Le pilote

Les expérimentations photocatalytiques sont réalisées avec un pilote fonctionnant en régime permanent. Le pilote est une boucle de traitement d'un volume total de 0.25 L, constitué d'un photoréacteur plan, d'un système de recirculation et de vannes d'alimentation et de soutirage. Il est composé d'un photo-réacteur équipé d'un panneau Leds UV interfacé avec un PC, d'une pompe centrifuge pour assurer l'homogénéité de la solution dans le réacteur et d'une pompe péristaltique pour l'alimentation du fluide (Figure III-1).

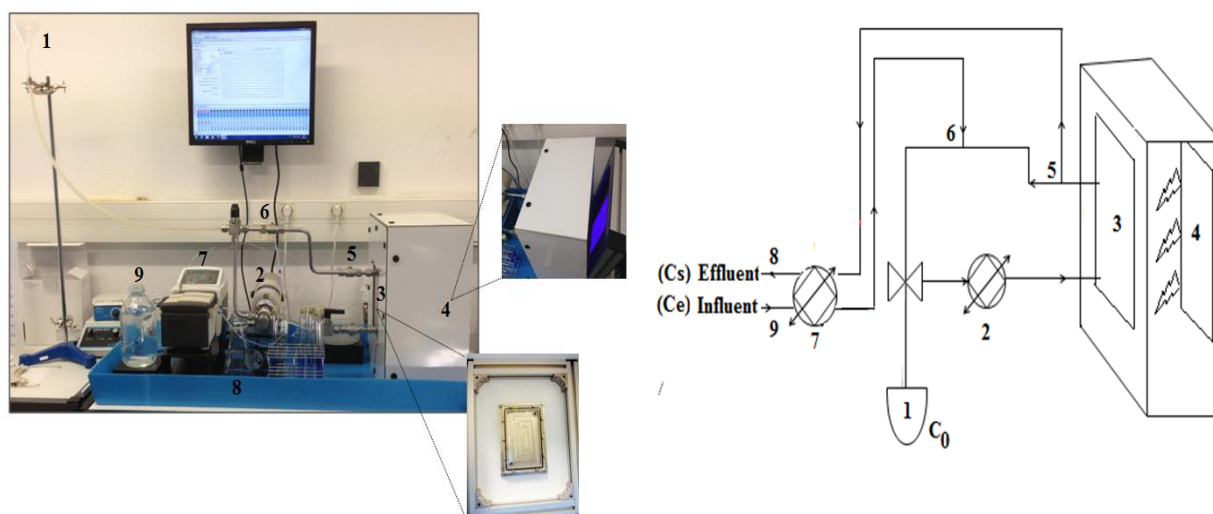


Figure III- 1: Réacteur ouvert parfaitement agité : apparence (a) ; schéma du circuit (b): bac de remplissage du circuit (1), pompe centrifuge (2), photo-réacteur plan (3), panneau de Leds UV (4), soutirage fluide (5), alimentation (6), pompe péristaltique (7), bac de récupération du fluide (8), bac d'alimentation du fluide (9).

Le photo-réacteur est un parallélépipède d'une largeur de 10 cm, d'une longueur de 15 cm et d'une épaisseur de 1 cm. Assimilable à un réacteur plan, il possède un fond en acier inoxydable couvert en face avant d'une plaque de PMMA transparente aux irradiations UV (à 90 %). Afin de l'isoler de toute source de lumière externe, le réacteur est monté à l'intérieur d'une enceinte fermée et exposée au panneau de diodes LEDs UVA de même dimension (280 leds distribuées en 10 rangées, λ centrée à 365 nm). La densité de flux d'irradiation émise par le panneau lumineux est modulable entre 3 W.m^{-2} et 50 W.m^{-2} avec un pas de variation de 256 niveaux. La surface et le volume utiles irradiés obtenus sont ainsi de 0.015 m^2 et 0.15 L respectivement, soit une surface volumique de $0.1 \text{ m}^2.\text{L}^{-1}$ ($10^{-4} \text{ m}^2.\text{m}^{-3}$). L'utilisation de diodes Leds UV dans ce dispositif innovant est plus avantageuse que l'utilisation de lampes classiques (lampes fluo-compactes). En effet les diodes Leds permettent de moduler la densité

de flux de manière précise, sur une large plage de densités d'irradiation et avec un faible pas de variation (0.2 W.m^{-2}). Elles permettent d'appliquer des consignes précises fixes et variables représentatives des conditions d'irradiation solaire : cycles journaliers, variations de densité de flux au cours d'une journée, d'un mois, etc.

La circulation de l'effluent dans le réacteur est en film ascendant. Elle est assurée par une pompe centrifuge permettant d'obtenir une solution homogène dans l'ensemble du circuit du système. Pour établir un régime continu, la boucle est alimentée en entrée par un influent à un débit constant. Simultanément, la même quantité d'effluent est soutirée en sortie de la boucle à un même débit afin de garder un volume de fluide fixe dans le système. Les débits d'alimentation/soutirage sont contrôlés par la pompe péristaltique multicanaux (*Watson Marlow 205 CA*) dont la gamme de débits est modulable entre 0.01 L.h^{-1} et 0.3 L.h^{-1} .

Les différentes caractéristiques de la boucle de traitement, telles que le volume total de fonctionnement (V_T), le volume du réacteur (V_r), le rapport du volume irradié par le volume total (V_r/V_T), la surface irradiée du réacteur (S_r), la plage de densités de flux d'irradiation (I) et la gamme des débits disponibles sont résumées dans le tableau III-1 :

Tableau III- 1: Caractéristiques géométriques et de fonctionnement de la boucle de traitement.

$V_T \text{ (L)}$	$V_r \text{ (L)}$	V_r/V_T	$S_r \text{ (m}^2\text{)}$	$I \text{ (W.m}^{-2}\text{)}$	$\dot{Q} \text{ (L.h}^{-1}\text{)}$
0.25	0.15	0.6	0.015	3 - 50	0.01-0.3

II- Etudes préliminaires

II-1 Mise en route du pilote

Préalablement aux expérimentations, une série de tests préliminaires est réalisée afin de fonctionner dans des conditions parfaitement maîtrisées. Il s'agit de s'assurer de la bonne étanchéité de l'ensemble du montage expérimental, vérifier l'uniformité du débit d'écoulement en entrée et en sortie de la boucle de traitement et étalonner la source lumineuse.

L'uniformité des débits d'écoulement de l'influent et de l'effluent en entrée et en sortie du pilot est vérifiée pour une gamme de débit allant de 0.025 L.h^{-1} à 0.06 L.h^{-1} . La densité de flux

d'irradiation est étalonnée pour une gamme qui varie entre 10 W.m^{-2} et 35 W.m^{-2} . Les fluctuations observées dans la gamme des débits d'écoulement et de densités de flux d'irradiation étudiées sont inférieures à 1%.

Ensuite, une première expérimentation est conduite dans le noir et en absence de catalyseur. Il s'agit d'évaluer les effets de phénomènes parasites ; adhésion sur les parois du montage, inactivation bactérienne imputable aux composantes du pilote, etc. La bactérie *E. coli* est mise en suspension dans une solution de Ringer (pH= 6.9) de manière à obtenir une charge initiale de 10^7 NPP.L^{-1} . La suspension bactérienne est ensuite recirculée dans la boucle de traitement en circuit fermée et sans alimentation durant 48 h. La concentration bactérienne dans le montage expérimental est suivie périodiquement ainsi que les valeurs du pH et de la température.

Le test préliminaire montre que le pH (pH= 6.9) est constant sur la période d'essai. Les valeurs de température obtenues varient très faiblement sur une plage allant de 25°C à 27°C .

Les mesures des concentrations bactériennes obtenues à l'intérieure de la boucle de traitement sont présentées sur la figure III-2.

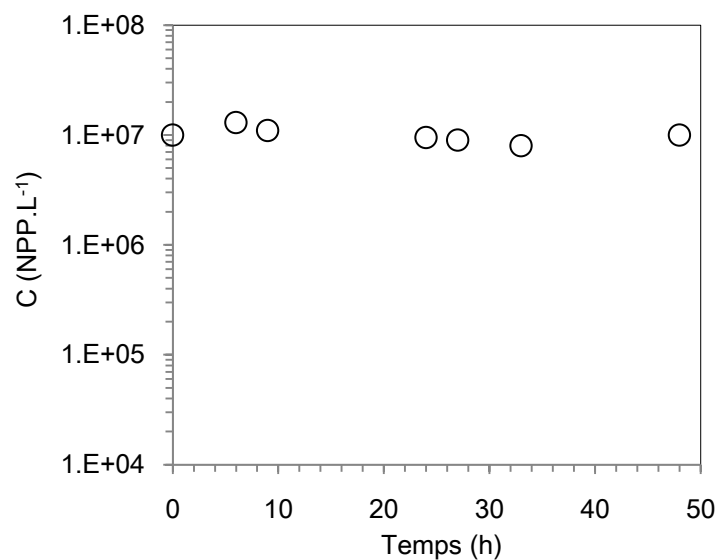


Figure III- 2: Evolution de la concentration bactérienne à l'intérieur de la boucle de traitement (en circuit fermé) dans le noir et en absence de catalyseur.

La population bactérienne est très stable sur la durée de la manipulation. Les fluctuations observées sont principalement due aux incertitudes de mesure de la population cible. Ainsi, il

peut être considéré que le système est stable et les conditions parfaitement maîtrisées pour réaliser des expérimentations photocatalytiques.

II-2 Détermination du temps de séjour

Le temps de séjour est déterminé en considérant la boucle de traitement dans son ensemble (réacteur + conduites de recirculation). Il s'agit de vérifier que la boucle de traitement peut être considérée comme parfaitement agitée et d'évaluer le volume mort. Le principe consiste à appliquer des consignes de concentrations bactériennes en entrée du système et de suivre la concentration de la population cible dans le réacteur au cours du temps. Dans notre cas, le temps de séjour expérimental sera évalué à partir de la réponse du système à un signal d'entrée de type échelon. Ce signal est obtenu expérimentalement en alimentant la boucle par une solution de traceur de concentration et débit constants. Dans cette étude, *E. coli*, une bactérie inerte, facilement mesurable et qui, à priori, n'influe pas sur les propriétés d'écoulement dans le système est choisie en tant que traceur. Cela permet de travailler dans des conditions proches des essais photocatalytiques.

Pour nos essais, deux créneaux successifs, un échelon positif puis un échelon négatif ont été appliqués. Préalablement au début de l'expérimentation, la boucle est remplie par une suspension bactérienne d'*E. coli* de concentration C_0 égale à 10^5 NPP.L⁻¹. Au temps $t=0$, la boucle est alimentée par une première suspension bactérienne de concentration $C_{e,1}$ égale à $1.5 \cdot 10^7$ NPP.L⁻¹ (soit un facteur de concentration égale à 150) et à un débit \dot{Q} de 0.06 L.h⁻¹. La concentration bactérienne C_s en sortie de la boucle de traitement est suivie au cours du temps, jusqu'à l'obtention du régime permanent : c'est-à-dire une concentration stable et identique à la concentration d'alimentation ($C_{e,1} = C_s$). Ensuite, la deuxième consigne est appliquée. La boucle est alimentée à un même débit par une suspension bactérienne de concentration $C_{e,2}$ égale à 10^5 NPP.L⁻¹ (soit un facteur de dilution égale à 150).

La réponse de la boucle de traitement est comparée à celle d'un réacteur ouvert parfaitement agité (RPA) se définissant suivant l'équation III-1.

$$C_s(t) = C_e - (C_e - C_0) \cdot e^{-\frac{t}{\theta}} \quad \text{Eq. III-1}$$

Où C_e et C_s (NPP.L⁻¹) sont les concentrations bactériennes en entrée et en sortie du réacteur respectivement, C_0 (NPP.L⁻¹) est la concentration bactérienne initialement présente dans le réacteur et θ (h) est le temps de séjour moyen dans le réacteur (égale au temps de passage).

Les profils des concentrations bactériennes théoriques et expérimentales en sortie de la boucle de traitement sont reportés en fonction du temps sur la figure III-3.

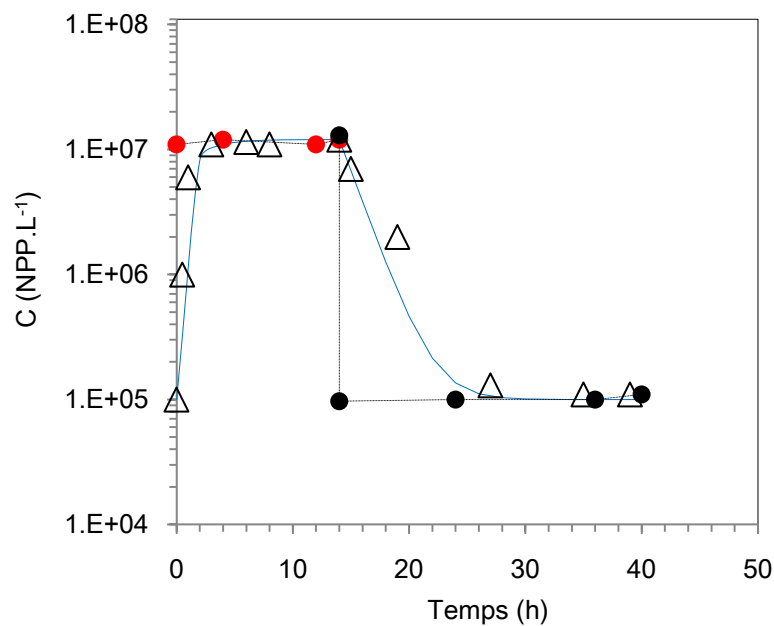


Figure III- 3: Evolution expérimentale (Δ) et théorique (trait continu) de la concentration bactérienne en sortie de la boucle de traitement en fonction du temps ; mesures expérimentales du signal échelon positif (●) ; mesures expérimentales du signal échelon négatif (●).

Les courbes des concentrations bactériennes théoriques et expérimentales concordent. Le temps de séjour expérimental (déterminé graphiquement) est égal à 4 h, tandis que le temps de séjour moyen théorique (égale au temps de passage dans la boucle de traitement) est égal à 4.16 h.

La concordance des profils et des temps de séjour moyen théoriques et expérimentaux indique que la boucle de traitement fonctionne en réacteur parfaitement agité (RPA). L'écart entre le temps de séjour moyen théorique et expérimental (0.16 h) correspond à un volume mort de 9 mL, ce qui peut être considéré comme négligeable pour la suite de notre étude.

III- Inactivation d'*E. coli* en régime permanent

III-1 Conditions d'expérimentation

Au vue du chapitre précédent, le processus de désinfection est le couplage d'une phase d'adhésion bactérienne à la surface du catalyseur et d'étapes d'inactivation de la cible, soit par photolyse soit par photocatalyse. L'objectif consiste donc à évaluer la part des effets attribuables à chacun de ces processus ayant lieu au cours de la désinfection.

L'ensemble des expérimentations photocatalytiques est réalisé dans la boucle de traitement sur la bactérie *E. coli* et dans des conditions d'irradiation et d'écoulement maîtrisées. La population bactérienne est systématiquement mise en suspension dans une solution de Ringer (pH=6.9). Le catalyseur utilisé est le media 2D Ahlstrom. Le média catalytique, d'une largeur de 10 cm et d'une longueur de 15 cm, est fixé au fond du réacteur. La totalité de la surface du média est exposée au panneau Leds UV. Les expérimentations sont systématiquement initiées dans le noir. La boucle de traitement est remplie au préalable par une solution de Ringer puis alimentée à un débit constant par une suspension d'*E. coli* de concentration initiale donnée. L'expérimentation est conduite sous irradiation constante jusqu'à l'atteinte du régime permanent. La concentration bactérienne est mesurée par prélèvement en sortie de la boucle de traitement. La gamme des densités de flux d'irradiation appliquée varie de 10 W.m^{-2} à 35 W.m^{-2} . La gamme des débits d'alimentation appliquée, comprise entre 0.025 L.h^{-1} et 0.06 L.h^{-1} , correspond à des temps de séjour compris entre 4.16 h et 10 h. Les valeurs du pH et de la température sont suivies régulièrement tout au long des expérimentations.

III-2 Influence de l'adhésion bactérienne en absence d'irradiation

Le phénomène d'adhésion bactérienne à la surface du catalyseur a été mis en évidence dans le chapitre 2. Il correspond au transfert des bactéries de la phase fluide vers la surface du catalyseur. Il s'agit de quantifier le phénomène d'adhésion ayant lieu lors du processus de désinfection. Pour ce faire, les profils des concentrations bactériennes en sortie de la boucle de traitement doivent être établis en présence du catalyseur et en absence d'irradiation.

Les expérimentations sont réalisées sur une suspension bactérienne initialement chargée à 10^7 NPP.L^{-1} . Un débit de 0.025 L.h^{-1} , correspondant à un temps de séjour moyen dans la boucle de 10 h, est appliqué.

Les profils des concentrations en bactérie mesurées en sortie de la boucle de traitement sont représentés dans la figure III-4.

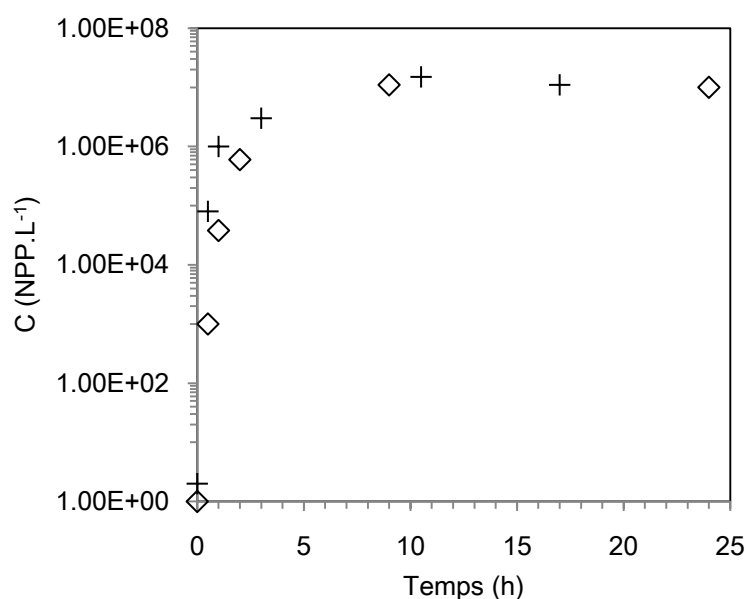


Figure III- 4: Evolution de la concentration bactérienne en sortie de la boucle de traitement dans le noir en absence (+) et en présence du catalyseur (◇).

Les courbes des concentrations bactériennes en sortie de la boucle de traitement sont obtenues en absence comme en présence de catalyseur. Les profils croissent initialement suivant des allures exponentielles. Elles se stabilisent au bout d'un temps de fonctionnement égal à 9.5 h, correspondant approximativement au temps de séjour moyen dans la boucle de traitement (10 h).

Il apparaît que la présence du catalyseur ralentit initialement la cinétique de la croissance bactérienne. Cet effet est dû, éventuellement, au transfert parallèle des bactéries de la phase liquide vers la phase en adhésion. En présence du catalyseur, la stabilisation des concentrations bactériennes est ralentie par le processus d'adhésion des bactéries à la surface du catalyseur. Une fois le régime permanent atteint, la concentration en sortie est identique à la concentration d'alimentation du réacteur : elle correspond à l'atteinte de l'état d'équilibre des bactéries entre le fluide d'alimentation et la surface du catalyseur.

Il semble donc que la présence du catalyseur n'a pas une influence significative sur le fonctionnement de la boucle.

III-3 Influence de la photolyse

L'objectif de cette partie est d'estimer puis comparer les contributions de la photolyse et de la photocatalyse dans l'inactivation bactérienne globale en régime permanent. Les expérimentations sont réalisées aussi bien en présence qu'en absence du catalyseur sur une suspension bactérienne d'une concentration égale à 10^7 NPP.L⁻¹. L'alimentation de la suspension est effectuée à un débit de 0.025 L.h⁻¹ ($\theta = 10$ h). Les expérimentations sont initiées dans le noir jusqu'à stabilisation de la concentration bactérienne en sortie de la boucle de traitement. Au temps $t=0$, la solution est irradiée par une densité de flux d'irradiation égale à 35 W.m⁻². Les conditions d'irradiation et d'alimentation sont maintenues jusqu'à ce que les profils des concentrations bactériennes soient stabilisés.

Les profils des concentrations bactériennes obtenues par voie photolytique et photocatalytique sont présentés en fonction du temps d'irradiation dans la figure III-5.

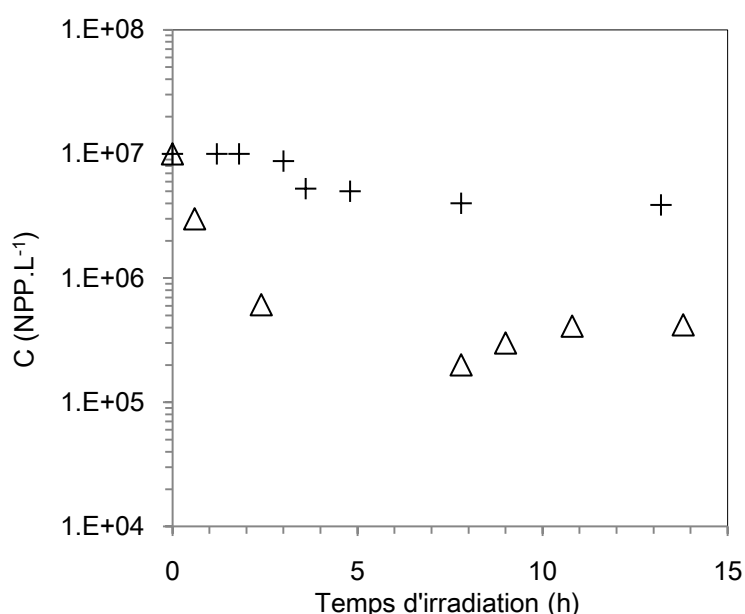


Figure III- 5: Inactivation bactérienne sous une densité de flux d'irradiation de 35 W.m⁻² obtenue par photolyse (+), photocatalyse (Δ).

Les cinétiques d'inactivation bactérienne obtenues par photolyse et photocatalyse se distinguent nettement. Les profils décroissent de manière exponentielle puis se stabilisent respectivement au bout de 8 h et 11 h d'irradiation. Les taux d'inactivation bactérienne obtenus par effet photolytique et photocatalytique sont respectivement de 0.4 log et 1.3 log, ce qui correspond à des rendements d'abattement respectifs de 61% et 96%.

Ces résultats mettent en évidence l'action directe de la photolyse dans l'inactivation bactérienne. A partir des résultats obtenus en régime permanent, il est possible de définir les capacités de désinfection du traitement photocatalytique. Les vitesses de désinfection, sont déduites graphiquement des résultats expérimentaux. Ces vitesses \dot{r} (NPP.L⁻¹.h⁻¹) se définissant par l'équation III-2, expriment le rapport entre la différence des concentrations d'alimentation C_e et d'équilibre C_{eq} en (NPP.L⁻¹) et le temps de séjour moyen dans la boucle de traitement θ (h).

$$\dot{r} = \frac{V_T}{V_r} \cdot \frac{C_e - C_{eq}}{\theta} \quad \text{Eq. III- 2}$$

Ainsi, il ressort que le traitement de la population bactérienne d'*E. coli* par photolyse suit une vitesse d'inactivation bactérienne de $6.12 \cdot 10^5$ NPP.L⁻¹.h⁻¹. Cette vitesse est 1.5 fois plus faible que celle obtenue par effet photocatalytique, égale à $9.58 \cdot 10^5$ NPP.L⁻¹.h⁻¹. La part attribuable à l'action directe de la photolyse dans l'inactivation bactérienne est significative. Elle reste néanmoins, inférieure à celle de la photocatalyse.

III- 4 Influence de la densité de flux d'irradiation

La condition d'irradiation est un paramètre clef pour caractériser le processus de désinfection par photocatalyse. En effet, l'influence de la densité de flux est largement reporté dans la désinfection par photocatalyse hétérogène [Wei et al., 1994 ; Huang et al., 1998 ; Rincon et Pulgarin, 2003 ; Cho et al., 2004]. Néanmoins, la plus part de ces études sont conduites dans des systèmes batch où le temps de résidence dans le réacteur n'est *in fine* pas limité pour assurer l'opération d'inactivation bactérienne. A l'opposé du système batch, l'inactivation des bactéries dans un système ouvert se fait « en un seul passage ». Dans ce cas, la maîtrise des conditions d'irradiation dans le réacteur est cruciale afin d'assurer l'inactivation effective des bactéries.

Notre objectif vise donc à évaluer le potentiel de la photocatalyse sur l'inactivation d'*E. coli* en régime permanent dans différentes conditions d'irradiation maîtrisées. Il s'agit de déterminer les vitesses d'inactivation bactérienne pour différentes densités de flux. Les expérimentations photocatalytiques sont réalisées avec une suspension bactérienne chargée à 10^7 NPP.L⁻¹. La boucle de traitement est alimentée à un débit de 0.025 L.h⁻¹ (soit un temps de séjour $\theta=10$ h). Les expérimentations photocatalytiques sont initiées dans le noir. Ce

processus a lieu jusqu'à ce que l'équilibre soit atteint. Cet équilibre correspond aux conditions d'adhésion d'*E. coli* à la surface du tissu, établie dans le chapitre 2. Dès lors, le traitement est initié par la mise sous irradiation du photo-réacteur. Lors de cette deuxième phase, on s'attend à ce qu'un second régime permanent soit atteint. Ce régime correspond à l'équilibre entre la vitesse de traitement photocatalytique et la vitesse d'alimentation du réacteur en bactéries. Cette approche permet d'exprimer la vitesse de traitement au cours du temps \dot{r} (Eq. III-2) en fonction des irradiations appliquées.

Les cinétiques d'inactivation bactérienne par photocatalyse sont étudiées pour des densités de flux d'irradiation de 10 W.m^{-2} , 20 W.m^{-2} et 35 W.m^{-2} . Les profils des concentrations bactériennes obtenus sont présentés dans la figure III-6.

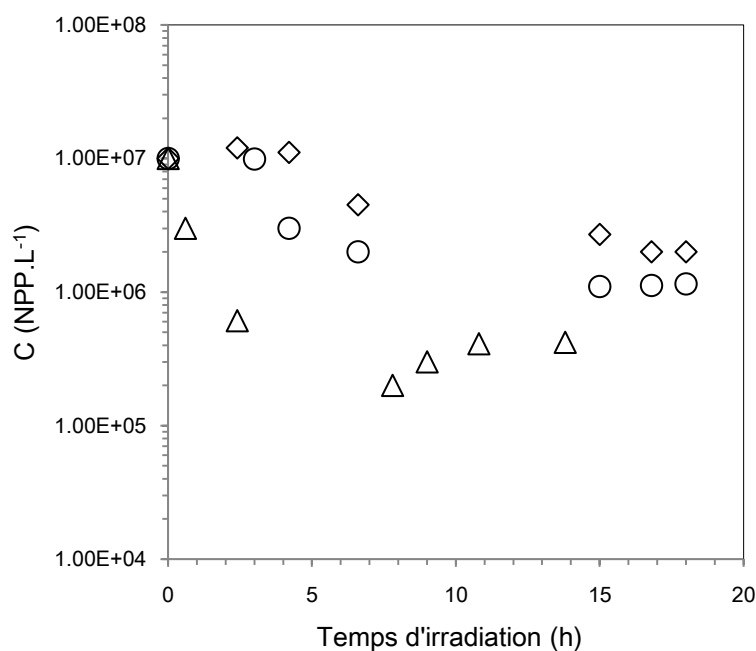


Figure III- 6: Inactivation bactérienne par photocatalyse sous une densité de flux d'irradiation de : 10 W.m^{-2} (◇), 20 W.m^{-2} (○), 35 W.m^{-2} (Δ).

Sur la figure III-6, les courbes des concentrations bactériennes obtenues sous 10 W.m^{-2} , 20 W.m^{-2} et 35 W.m^{-2} décroissent selon une allure exponentielle. Elles se stabilisent lorsque le régime permanent est atteint respectivement au bout de 17 h, 15 h et 11 h. Les abattements respectifs atteints en régime permanent sont de 0.7 log (80%), 0.9 log (89%) et 1.2 log (96%), ce qui correspond à des vitesses d'inactivation bactérienne respectives de $8 \times 10^5 \text{ NPP.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$, $8.85 \times 10^5 \text{ NPP.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ et $9.85 \times 10^5 \text{ NPP.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$.

Ces résultats confirment la dépendance forte du taux d'inactivation bactérienne à la densité du flux lumineux. Plus la densité d'irradiation est intense et plus la vitesse de traitement est importante. Cette relation traduit une interdépendance entre la quantité de photons reçue dans le réacteur et la production des espèces radicalaires responsables de la réaction photocatalytique. Elle est largement décrite dans la littérature aussi bien pour la désinfection des microorganismes [Goswami et al., 1997, Pal, 2007 et Pal et al., 2008] que pour le traitement de polluants chimiques [Plantard et al., 2011, Elatmani, 2013].

III-5 Influence du temps de séjour

La réaction d'inactivation bactérienne a principalement lieu sur la surface du catalyseur ou à son voisinage très proche [Turchi et Ollis, 1990 ; Lee et Choi, 2002 ; Thiebaud et al., 2010]. De ce fait, le temps de contact entre les bactéries et le catalyseur est primordial dans le processus de désinfection par voie photocatalytique. La démarche suivie consiste donc à évaluer le potentiel de la photocatalyse sur la l'inactivation d'*E. coli* en régime permanent sous différentes conditions d'écoulement. Pour ce faire, il s'agit de suivre la concentration bactérienne au cours du temps pour différents débits d'alimentation. Ainsi, il sera possible d'évaluer les vitesses d'abattement par photocatalyse en fonction du temps de séjour moyen dans la boucle de traitement. Les expérimentations photocatalytiques sont réalisées avec une suspension bactérienne chargée à 10^7 NPP.L⁻¹. Différents débits d'écoulement sont testés à savoir, 0.06 L.h⁻¹, 0.04 L.h⁻¹ et 0.025 L.h⁻¹. Ils correspondent à des temps de séjour respectifs de 4.16 h, 6.25 h et 10 h. Les expérimentations sont initiées, conformément aux fois précédentes, dans le noir jusqu'à l'atteinte de l'état d'équilibre ($C_e = C_s$). Le photo-réacteur est ensuite soumis à une densité de flux d'irradiation constante égale à 35 W.m⁻².

Les profils des concentrations bactériennes présentes dans la boucle de traitement sont reportés en fonction des conditions d'écoulement sur la figure III-7. Les vitesses d'abattement sont déduites de l'expression III- 2, lorsque les régimes permanents sont atteints.

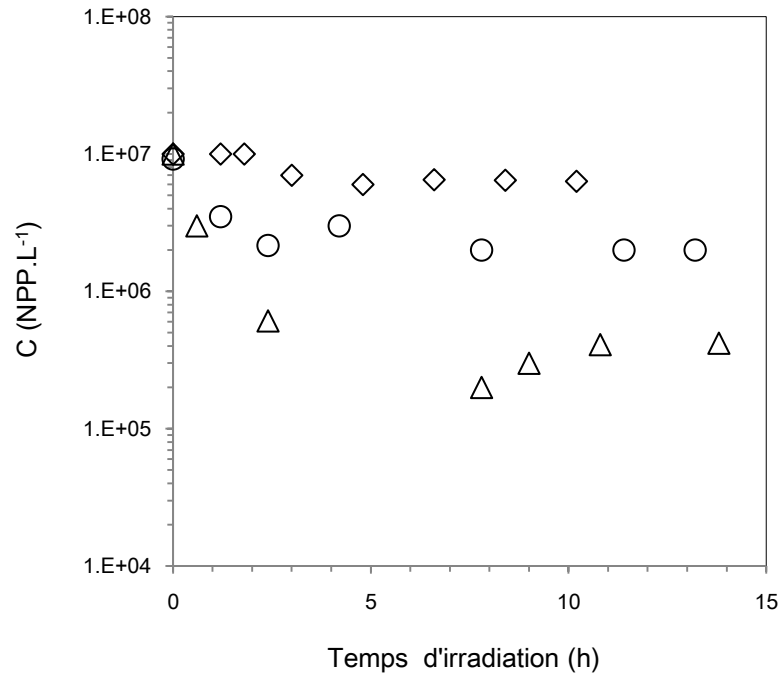


Figure III- 7: Inactivation bactérienne par photocatalyse sous une densité de flux d'irradiation de 35 W.m^{-2} et sous un débit d'écoulement de : 0.06 L.h^{-1} (◇), 0.04 L.h^{-1} (○), 0.025 L.h^{-1} (Δ).

Les courbes des cinétiques d'inactivation bactérienne obtenues pour les débits d'écoulement de 0.06 L.h^{-1} , 0.04 L.h^{-1} et 0.025 L.h^{-1} décroissent selon une allure exponentielle puis se stabilisent lorsque le régime permanent est atteint, soit au bout de 3 h, 8 h et 11 h respectivement. Les réductions bactériennes respectives atteintes en régime permanent sont de 0.19 log (37%), 0.6 log (76%) et 1.2 log (96%), ce qui correspond à des vitesses de traitement égales à $8.8 \cdot 10^5 \text{ NPP.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$, $9.2 \cdot 10^5 \text{ NPP.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ et $9.58 \cdot 10^5 \text{ NPP.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$.

Ces résultats montrent une relation directe entre le débit d'écoulement et le taux de réduction bactérienne en régime permanent. Plus le débit d'écoulement est faible meilleure est la vitesse du traitement, ce qui est en accord avec la littérature [Queffeuilou, 2009].

La relation directe entre le temps de séjour et la vitesse de traitement en régime permanent démontre la nécessité de bien définir la condition d'écoulement dans le réacteur selon les objectifs de désinfection que l'on souhaite atteindre. Le dimensionnement du réacteur en termes de volume et de débit d'écoulement doit permettre ainsi un temps de contact suffisant entre le catalyseur et la solution à traiter afin que la réaction photocatalytique soit suffisamment effective.

IV- Modélisation de l'inactivation bactérienne en régime permanent

Les cinétiques de désinfection établies avec le montage de laboratoire fonctionnant en mode batch (chapitre 2) ont permis de définir une loi cinétique permettant de simuler les profils des concentrations bactériennes au cours du processus de désinfection. Cette cinétique décrit le couplage entre le processus de transfert qui mène à l'adhésion des bactéries sur la surface du catalyseur et le mécanisme photocatalytique induisant l'inactivation des bactéries. Réalisées sous conditions contrôlées, ces expérimentations tiennent compte de la densité de flux d'irradiation et la concentration en bactéries. Réussir à prédire les performances bactéricides du procédé fonctionnement en mode batch constitue une première brique essentielle. Néanmoins, d'un point de vue pratique, le véritable enjeu pour une application consiste à pouvoir extrapoler et valider cette loi dans un système fonctionnant en mode continu.

Les cinétiques expérimentales déterminées dans ce chapitre ont permis d'étudier l'effet de deux conditions opératoires régissant l'inactivation de la bactérie *E. coli*. Il s'agit de la densité de flux d'irradiation et du temps de séjour moyen du procédé. A partir de ces données, l'objectif est de proposer un modèle capable de prédire les performances de désinfection en flux continu. A terme, il s'agit de pouvoir, à partir de simulations, évaluer le fonctionnement du procédé de désinfection par photocatalyse à plus grande échelle et sur des temps représentatifs (journée, mois, année). Cette démarche permettra le dimensionnement d'un démonstrateur fonctionnant en flux continu et sous irradiation solaire pour la désinfection des eaux en sortie de STEP.

IV- 1 Dérivation du modèle cinétique

Au vue de la littérature [Farooq *et al.*, 1977 ; Roy *et al.*, 1981 ; Kouame, 1990], la cinétique bactérienne en mode continu peut être reproduite en combinant les caractéristiques hydrauliques du système continu et la vitesse d'inactivation déterminée au préalable dans un système batch. La description théorique du fonctionnement du procédé fonctionnant en mode continu peut ainsi être réalisée en intégrant la vitesse d'inactivation obtenue précédemment en mode batch \dot{r} dans le bilan de matière en concentrations bactériennes du pilote fonctionnant en mode continu. La boucle de traitement étudiée dans notre cas correspond à un réacteur

parfaitement agité (RPA). L'évolution de la concentration bactérienne dans la boucle de traitement peut ainsi être exprimée suivant l'équation III-3

$$V_T \frac{dC}{dt} = \dot{Q}C_e - \dot{Q}C_s + V_r \dot{r} \quad \text{Eq. III-3}$$

Où V_T (L) est le volume total de la boucle, V_r (L) est le volume irradié du photoréacteur, \dot{Q} (L.h⁻¹) est le débit d'écoulement, \dot{r} (NPP.L⁻¹.h⁻¹) est la vitesse d'inactivation bactérienne obtenue préalablement dans le système batch.

Par ailleurs, la vitesse de réaction \dot{r} implique un couplage entre deux phénomènes à savoir: l'adhésion bactérienne et la réaction photocatalytique. Comme cela a été proposé, l'inactivation bactérienne est due à la fois à une réaction de dégradation dans la phase liquide et à la surface du catalyseur. De ce fait, les concentrations bactériennes dans la boucle de traitement (phase liquide) ainsi que la densité bactérienne à la surface du catalyseur peuvent être respectivement exprimées par le système d'équations différentielles Eq. III-4 et Eq. III-5.

$$\frac{dC}{dt} = \frac{(C_e - C)}{\theta} - \frac{V_r}{V_T} \cdot (K_s \cdot S_{cat} \cdot (q_e - q) + \alpha \cdot I_r^f \cdot C) \quad \text{Eq. III-4}$$

$$\frac{dq}{dt} = K_s \cdot (q_e - q) - \alpha' \cdot I_r^{f'} \cdot q \quad \text{Eq. III-5}$$

La densité de flux d'irradiation mesurée à la surface du réacteur I (W.m⁻²) est rapportée par unité de volume irradié I_r (W.m⁻³). Cette grandeur moyenne est considérée comme représentative du flux de photon disponible dans le volume du réacteur pour réaliser l'opération d'inactivation.

Dans notre démarche, il est proposé de fixer le coefficient de transfert de matière (K_s) défini précédemment pour le catalyseur supporté (chapitre 2) et l'intégrer dans les équations différentielles comme une grandeur fixe. Ensuite, il s'agit d'identifier les quatre constantes cinétiques α , α' , f et f' impliquées dans la cinétiques de la réaction photocatalytique sous les conditions d'irradiation et d'écoulement variables.

IV-2 Validation du modèle cinétique

Les profils des concentrations en bactéries dans la boucle de traitement sont simulés via la résolution des systèmes d'équations différentielles Eq. III-4 et Eq. III-5. La minimisation du critère Erreur Relative Moyenne (ERM), issue des écarts entre les valeurs des concentrations bactériennes théoriques et expérimentales, permet d'identifier le jeu de paramètres ajustables recherchés.

Les résultats des profils des concentrations bactériennes expérimentales et simulées obtenus dans différentes conditions d'irradiation et d'écoulement sont présentés dans la figure III-8 et la figure III-9. Notons qu'une phase préliminaire sans irradiation est systématiquement appliquée.

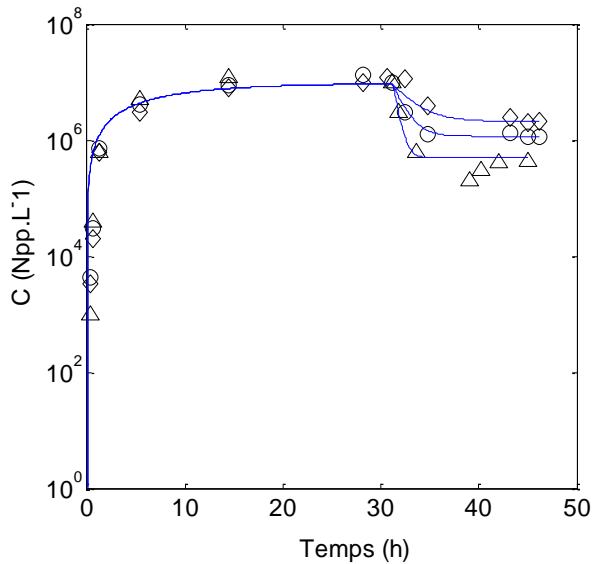


Figure III- 8: Evolution de la concentration bactérienne expérimentale et simulée dans l'effluent de sortie dans le noir (0 h à 30 h) puis sous une densité d'irradiation : 10 W.m⁻² (◇), 20 W.m⁻² (o), 35 W.m⁻² (Δ).

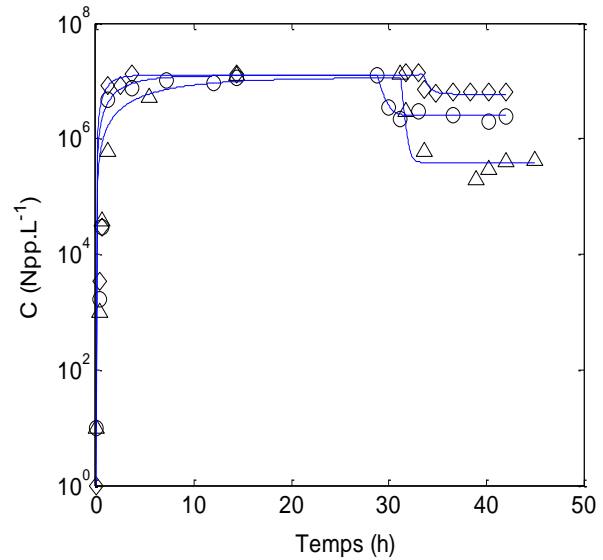


Figure III- 9: Evolution de la concentration bactérienne expérimentale et simulée dans l'effluent de sortie dans le noir (0 h à 30 h) puis sous irradiation de 35 W.m⁻² pour différents débits d'écoulement : 0.06 L.h⁻¹ (◇), 0.04 L.h⁻¹ (o), 0.025 L.h⁻¹ (Δ).

Les simulations sont mises au point en tenant compte des conditions opératoires telles que les caractéristiques hydrauliques de la boucle de traitement (volume, débit), les conditions d'irradiations (densité de flux, surface irradiée). Elles ont été établies de manière à être

représentatives des profils des concentrations bactériennes mesurées expérimentalement dans le réacteur. Comparées aux résultats expérimentaux, les profils théoriques permettent d'identifier le jeu de paramètres cinétiques, aussi bien en absence qu'en présence d'irradiation.

Les résultats de la modélisation permettent d'obtenir, dans l'ensemble, une approximation satisfaisante (ERM = 20.2%) de l'évolution des concentrations bactériennes en sortie de la boucle de traitement. Les simulations, obtenues dans le noir ainsi que dans les gammes de densités d'irradiation et de débits d'écoulement étudiées, démontrent que le modèle est capable de traduire le fonctionnement du procédé en phase stationnaire (régime permanent). Il décrit parfaitement l'état d'équilibre entre la vitesse d'alimentation en bactéries et la vitesse d'inactivation photocatalytique. Il est également représentatif des profils obtenus en phases transitoires, caractéristiques d'un état lié à une évolution de la concentration bactérienne en phase liquide. Ainsi, ce modèle rend compte aussi bien du transfert des bactéries à la surface du catalyseur, de l'étape d'adhésion bactérienne que du processus d'inactivation.

L'ensemble de ces données permet alors de valider le modèle. Il démontre la pertinence de la loi cinétique définie précédemment dans le mode batch.

Le jeu de paramètres cinétiques identifiés est reporté dans le tableau III-2. Il correspond aux paramètres extraits du modèles afin d'obtenir la représentation optimale des profils des concentrations bactériennes pour l'ensemble des conditions de fonctionnement étudiées.

Tableau III- 2: Comparaison entre les données cinétiques obtenues en mode batch et continu.

Coefficient cinétique	Mode batch	Mode continu
K_s (10^{-6} s^{-1})	0.54	0.54
α ($10^{-6} \text{ m}^3 \text{ J}^{-1}$)	10.2	4.1
α' ($10^{-6} \text{ m}^3 \text{ J}^{-1}$)	6	1.6
f	1.2	1.39
f'	0.06	0.093
ERM (%)	9.8	20.2

Sur la base de constats expérimentaux qui sont mis en évidence tout au long des différents essais: phénomène d'adhésion ; atteinte d'état d'équilibre entre phase liquide et bactéries en

adhésion, dépendance de la cinétique d'inactivation vis-à-vis de la densité de flux à la surface du réacteur,... ; le modèle développé repose sur le couplage entre deux phénomènes distincts qui ont été formalisés. Le premier phénomène correspond au transfert des bactéries de la solution vers la surface du catalyseur puis à l'adhésion de ces micro-organismes. Le second est associé à une inactivation de ces mêmes bactéries par les radicaux hydroxyles. Cette inactivation intervient à la fois sur les bactéries en adhésion et sur les bactéries au voisinage du catalyseur. Intrinsèquement, ces phénomènes sont indépendants du mode de fonctionnement (batch/continu).

Idéalement, les profils de concentrations devraient être simulés avec un même jeu de paramètres. Ceci est effectivement le cas pour le coefficient de transfert de masse (K_s), alors que des différences apparaissent pour les autres coefficients cinétiques. On peut néanmoins constater que l'ensemble des paramètres cinétiques restent d'un ordre de grandeur très proche. Il est également intéressant de noter que c'est essentiellement la constante cinétique α' , caractéristique de l'inactivation des bactéries en adhésion à la surface du catalyseur, qui diffère d'un type d'expérimentation à l'autre. Un facteur 4 existe sur ce coefficient lors du passage d'un fonctionnement batch à un fonctionnement en continu, alors que la constante cinétique α diffère d'un facteur de l'ordre de 2.

Si les conditions de fonctionnement, la géométrie, la conduite des expérimentations sont radicalement différentes dans les deux cas : régime transitoire et permanent, géométrie cylindrique et cartésienne, ... les conditions initiales et tout particulièrement l'état initial de la surface du catalyseur est une des différences probablement la plus marquée entre les deux types d'expériences. Dans les expériences en mode batch, la surface du catalyseur est initialement libre de toute bactérie et se charge rapidement en début de traitement. Cependant, dans les expériences en régime permanent, la surface du catalyseur est à l'équilibre avec la phase liquide, donc saturée en bactérie : Sous irradiation, la surface du catalyseur voit la densité de bactéries fortement diminuée en début d'expérience. Ainsi, c'est probablement l'hypothèse de réversibilité parfaite du phénomène d'adhésion (implicite au formalisme adopté) qui est en partie mise en défaut. Considérer que les bactéries inactivées sont systématiquement ou immédiatement relarguées vers la phase liquide conduit très certainement à surestimer la part occupée par la surface du catalyseur dans le processus global d'inactivation. Sur cette base de raisonnement, qu'il conviendra de conforter par des essais supplémentaires, ce sont à priori les résultats issus des expérimentations effectuées avec le

montage fonctionnant en régime permanent qui permettent d'approcher au mieux la réalité du processus de désinfection.

Conclusion

Ce chapitre a consisté en l'étude de l'inactivation de la bactérie *E. coli* par photocatalyse hétérogène dans un procédé contenant un catalyseur supporté : media 2D Ahlstrom. Les travaux ont porté sur la conception, la mise en route et la caractérisation d'une boucle de traitement originale permettant un fonctionnement en régime permanent. Les conditions opératoires ont été définies de façon à pouvoir opérer dans des conditions d'irradiations et d'écoulement reproductibles et comparables : volume et surface irradiés, volume mort, temps de séjour moyen.

Les expérimentations préliminaires ont montré que la boucle de traitement est parfaitement agitée. Ensuite, une série d'expérimentations a été conduite dans la boucle de traitement dans des conditions de fonctionnement maîtrisées. Le but a été d'établir les profils expérimentaux d'inactivation bactérienne afin d'évaluer l'effet de deux paramètres clefs régissant le procédé : la densité de flux d'irradiation et le débit d'écoulement. Les expérimentations conduites initialement dans le noir et en présence du catalyseur ont mis en évidence un effet négligeable du phénomène d'adhésion bactérienne sur le fonctionnement du procédé en flux continu. Par ailleurs, les expérimentations conduites sous irradiation et en absence de catalyseur ont permis de quantifier l'action directe de la photolyse dans le processus global de désinfection. En régime permanent et dans les mêmes conditions d'irradiation, la vitesse d'inactivation bactérienne attribuable à la photolyse seule est 1.5 fois plus faible que celle de la photocatalyse.

La densité du flux lumineux et le débit d'écoulement dans la boucle de traitement ont également été étudiés. Il est apparu que ces deux paramètres influent directement sur le taux d'inactivation bactérienne en régime permanent. Comme attendu, le taux d'inactivation bactérienne maximal a été obtenu pour la valeur de densité d'irradiation la plus élevée et la valeur de débit d'écoulement la plus faible.

Finalement, l'approche suivante a consisté à valider la possibilité de prédire l'évolution de l'inactivation bactérienne dans le procédé continu à partir de la cinétique de réaction définie au préalable dans le procédé batch. En se basant sur les profils cinétiques obtenus expérimentalement pour les différentes conditions de traitement (conditions d'irradiation et d'écoulement), le modèle cinétique établi en mode batch a été testé. L'ensemble des résultats

ont permis de valider la démarche suivie et ont confirmé la possibilité de prédire les cinétiques de l'inactivation bactérienne obtenues en régime permanent à partir de la loi cinétique définie en mode batch. Néanmoins, des différences sont apparues pour les coefficients cinétiques entre les deux régimes. Ces différences concernent principalement les coefficients α (facteur 2 entre le mode permanent et le mode batch) et α' (facteur 4). Ces différences ont été rapportées éventuellement à la géométrie et à la conduite des expérimentations, mais aussi aux conditions initiales de fonctionnement (en particulier l'état initial de la surface du catalyseur). Il a été conclu, au final, que ce sont les résultats issus des expérimentations conduites dans le montage continu qui permettraient d'approcher le mieux la réalité du processus de désinfection.

CHAPITRE IV Inactivation d'*Escherichia coli* par photocatalyse hétérogène évaluée par culture, q-PCR et v-q-PCR

Introduction

En préambule à ce chapitre, il est important de poser quelques définitions relatives aux différents états de viabilité des bactéries. Le concept de viabilité des bactéries est difficile à appréhender et de nombreuses définitions sont possibles [McDougald et al. 1998 ; Barer et al. 2000; Joux and Lebaron 2000 ; Bogosian and Bourneuf 2001; Oliver 2005]. En effet, la viabilité peut être associée à la capacité d'une bactérie à se multiplier sur un milieu de culture ou à exprimer des caractères physiologiques qui suggèrent l'existence d'une intégrité membranaire ; d'une activité métabolique (activité enzymatique intracellulaire, activité respiratoire, etc.). De ce fait, diverses techniques de détection et de quantification des bactéries viables basées sur un ou plusieurs de ces critères peuvent être utilisées: culture dans/sur un milieu liquide/solide, suivi de l'intégrité cellulaire comme l'intégrité membranaire (la cytométrie en flux, la microscopie après marquage '*Live Dead Backlight*'), mesure d'activités métaboliques comme l'utilisation d'un substrat ou la synthèse de protéines, mesure de l'activité respiratoire et enzymatique, etc. [Joux et Lebaron, 2000 ; Keer and Birch, 2003].

En dépit de la variété des techniques existantes, la quantification bactérienne par mise en culture est de loin la plus utilisée [Huang et al., 2000; Wist et al., 2002 ; Kuhn et al., 2003 ; Rincon et al., 2004 ; Malato et al., 2009]. Elle se distingue par la facilité de sa mise en œuvre, son coût d'exploitation faible et du fait qu'elle permette la détection d'un large éventail de bactéries [Matsunaga et al., 1985 ; Saito et al., 1992 ; Sunada et al., 2003 ; Cheng et al. 2007 ; Pigeot-Rémy et al., 2011 ; Carré et al. 2013]. A l'origine de l'utilisation de cette méthode, la différence entre bactéries «vivantes» et bactéries «mortes » s'exprimait par la capacité des bactéries à se multiplier ou non dans/sur des milieux de culture. Le nombre de bactéries viables correspondait ainsi au nombre de bactéries cultivables. Cependant, les développements méthodologiques ont permis de mettre en évidence que la frontière entre la vie et la mort d'une bactérie ne peut être définie par cet unique et simple concept. En effet, il est apparu que certaines bactéries, quoique toujours viables, pouvaient perdre leur 'cultivabilité' une fois exposées à des conditions de stress défavorables (osmolarité du milieu, salinité, pH, etc.) [Ravel et al. 1995; Pinto et al., 2013]. Cet état dans lequel les cellules bactériennes sont viables mais ne peuvent plus croître dans/sur un milieu de culture est appelé «l'état viable non cultivable» ou état VBNC.

L'état VBNC a été démontré pour différentes bactéries telle que *E. coli* [Winfield et Groisman, 2003 ; Bjergbaeck et Roslev, 2005, Oliver et al., 2005]. Il a été rapporté également

que des bactéries pathogènes VBNC pouvaient maintenir leurs caractéristiques pathogènes tout en étant indétectables par les techniques de culture [Colwell et al., 1996; Muela et Barcina, 2008]. Par conséquent, le dénombrement des bactéries par culture seule peut être trompeur et s'avère incomplet d'un point de vue risque sanitaire [Hellweger et al., 2009]. Afin de palier à ce problème, la solution est alors de s'appuyer sur des techniques de quantification bactérienne « complémentaires », qui apporteraient davantage de précision sur l'efficacité du traitement appliqué. Parmi ces techniques, la q-PCR (quantitative-Polymerase-Chain-Reaction) et la v-q-PCR (viability-quantitative-Polymerase-Chain-Reaction) semblent donner des résultats probants [Nocker et al., 2007; Varma et al., 2009; Delgado-Viscogliosi et al., 2009]. Il s'agit de techniques moléculaires permettant de quantifier les molécules d'ADN génomique des bactéries.

La q-PCR permet de quantifier toutes les molécules d'ADN intactes présentes dans la solution. Elle ne discrimine pas les bactéries viables des bactéries VBNC ou des bactéries mortes. Cette propriété permet implicitement de vérifier le contenu total en bactéries dans l'eau indépendamment de leur état de viabilité. La v-q-PCR permet de quantifier uniquement l'ADN appartenant aux bactéries viables. L'ensemble de ces deux techniques assume que la viabilité bactérienne se traduit par le critère intégrité membranaire. Ainsi seules les bactéries à paroi intègre sont considérées viables.

Le suivi de l'inactivation de la bactérie *E. coli* tout au long de notre étude est réalisé par la méthode de culture. En effet, malgré sa limitation (ne détecte pas les VBNC), cette méthode est utilisée de manière systématique pour le contrôle en routine de la qualité bactériologique des eaux. Elle est également la seule à être reprise dans les normes sur la qualité des eaux [ISO 6461-1, 1986 ; NF EN 9308-3-1999 ; ISO 6222, 1999].

Ainsi, de manière à compléter les résultats obtenus par la méthode de culture, on se propose d'évaluer l'efficacité d'inactivation photocatalytique de la bactérie *E. coli* via les deux techniques moléculaires, q-PCR et v-q-PCR. Afin d'évaluer le potentiel de ces techniques, une solution de référence d'*E. coli* sera traitée par photocatalyse. L'expérimentation photocatalytique est conduite dans le montage de laboratoire (décrit dans le chapitre 2), sous une condition d'irradiation contrôlée de 35 W.m^{-2} et utilisant le catalyseur Degussa P25 en suspension. La démarche suivie consiste à déterminer et comparer les cinétiques d'inactivation bactérienne obtenues par la méthode de culture et les deux techniques moléculaires. Cette comparaison permettra, en particulier, de discriminer les bactéries viables cultivables (VBC) mesurées notamment par la technique de culture et la totalité des bactéries

viables (à parois intégres). Elle permettra également de mettre en avant le principal mécanisme d'inactivation bactérienne par voie photocatalytique, la lyse membranaire. Ce dernier aspect sera investigué au préalable via une technique de microscopie à épifluorescence, la LIVE DEAD Backlight. Finalement, un modèle cinétique permettant de reproduire les différentes cinétiques d'inactivation bactérienne obtenues sera proposé. Ce modèle a pour objectif de distinguer les populations bactériennes sensibles de celles résistantes au traitement photocatalytique.

I- Partie expérimentale

Dans cette étude, l'inactivation bactérienne d'*E. coli* par photocatalyse hétérogène est étudiée sous des conditions de fonctionnement maîtrisées dans le montage de laboratoire (chapitre 2). Les mesures des cinétiques d'inactivation sont effectuées via deux techniques de quantification moléculaire, la q-PCR et la v-q-PCR ainsi que la technique de mesure conventionnelle par culture. La comparaison des mesures de chacune de ces techniques est pertinente afin d'apporter plus de précision sur les effets bactéricides du procédé photocatalytique appliqué. Il s'agit d'apporter des informations sur la viabilité des bactéries au cours du traitement photocatalytique, en distinguant les cellules dites viables cultivables de la totalité des cellules potentiellement viables. Il s'agit également, d'évaluer l'évolution de ces états au cours de la cinétique photocatalytique. Ceci permettra, par ailleurs, de mettre en avant le principal mécanisme d'inactivation bactérienne, la lyse membranaire. Ce mécanisme est mis en évidence au préalable via des observations microscopiques à épifluorescence.

Pour chacune des techniques utilisées, un protocole de laboratoire est établi puis validé. Ces protocoles permettent d'adapter chacune des mesures à effectuer en fonction des conditions de fonctionnement mises en œuvre.

I-1 Conditions d'expérimentation photocatalytique

L'expérimentation photocatalytique est conduite avec le montage de laboratoire fonctionnant en mode batch et sous une condition d'irradiation contrôlée. Elle est réalisée sur une suspension bactérienne d'*E. coli* d'un volume total de 1 L. La bactérie est mise en suspension dans la solution de Ringer (pH=6.9) de manière à obtenir une charge bactérienne initiale égale à 10^7 NPP.L⁻¹. Le catalyseur utilisé est le Degussa P25. Le matériau est mis en suspension dans la solution à traiter après une étape préalable de sonication (20 min). Cela vise à séparer les agrégats de poudre de TiO₂ susceptibles de se former initialement dans la solution à traiter.

La concentration en catalyseur utilisée est de 1.66 g.L^{-1} , ce qui correspond à une configuration permettant une transmittance maximale du rayonnement à travers le réacteur égale à 10%.

La suspension bactérienne en présence du catalyseur est maintenue agitée dans le réservoir de stockage. Elle est mise en recirculation par une pompe tout au long du traitement. Au temps $t=0$, une densité de flux d'irradiation UV ($\lambda = 365 \text{ nm}$) de 35 W.m^{-2} est appliquée à la surface du réacteur. Les valeurs du pH et de la température de la solution à traiter sont régulièrement mesurées. Le suivi de l'inactivation bactérienne au cours du temps est effectué dans la phase liquide. Ainsi, avant toute mesure, la poudre de TiO_2 est séparée systématiquement de l'échantillon à analyser par décantation durant 20 min. Cette durée a été évaluée expérimentalement afin de récupérer un maximum de poudre décantée égale à 90%.

I-2 Analyse qualitative par microscopie à épi-fluorescence (Live Dead Backlight)

I-2-1 Principe

La technique LIVE DEAD est une technique de marquage qui se base sur l'utilisation de réactifs (fluorochromes) permettant, une fois en contact avec les cellules bactériennes, de les visualiser et caractériser l'état physique de leurs parois membranaires (endommagée ou non) [Pigeot-Rémy et al., 2011 ; Kim et al., 2013]. L'utilisation de cette technique a pour objectif de mettre en évidence le mécanisme principal de l'inactivation bactérienne par voie photocatalytique, la lyse membranaire [Malato et al. 2009 ; Pablos et al., 2011 ; Pigeot-Rémy et al., 2011].

Les réactifs utilisés consistent en une mixture de fluorochromes, le SYTO 9 (couleur verte) et l'Iodure de Propidium (IP) (couleur rouge). Le SYTO 9, est parfaitement capable de pénétrer aussi bien les bactéries à parois endommagées (mortes) que les bactéries à parois intègres (viables). L'IP est, cependant, incapable de pénétrer les cellules intactes. L'observation des bactéries sous un microscope à épi fluorescence, après excitation des fluorochromes ($\lambda=488 \text{ nm}$), permet ainsi de visualiser les bactéries à parois intègres (supposées viables), émettant une fluorescence verte et les bactéries à parois endommagées (supposées mortes), émettant une fluorescence rouge.

I-2-2 Protocole expérimental

Le marquage des échantillons d'*E. coli* est établi via le kit Live Dead Backlight (*Molecular Probes, kit L13152*) suivant le protocole de laboratoire schématisé sur la figure IV-1.

Un volume de 40 mL de l'échantillon d'*E. coli* à analyser est prélevé et centrifugé à 7,000 g pendant 10 min (centrifugeuse 5430, *Eppendorf*). Le culot récupéré est lavé dans 20 mL d'une solution de NaCl concentrée à 0.85% puis suspendu dans un volume de 2 mL de la même solution. A partir des 2 mL obtenues, un aliquote de 50 μ L est prélevé et mixé avec un volume équivalent en solution comprenant les deux marqueurs fluorochromes.

Le mixte final obtenu est stocké dans le noir pendant 15 min à température ambiante afin que les marqueurs interagissent effectivement avec les cellules bactériennes. Enfin, l'ensemble du mélange marqueurs/bactéries d'un volume total de 100 μ L est récupéré sur un filtre en polycarbonate (0.2 μ m - *Whatman*) puis observé sous le microscope à épifluorescence sous un grossissement 100X.

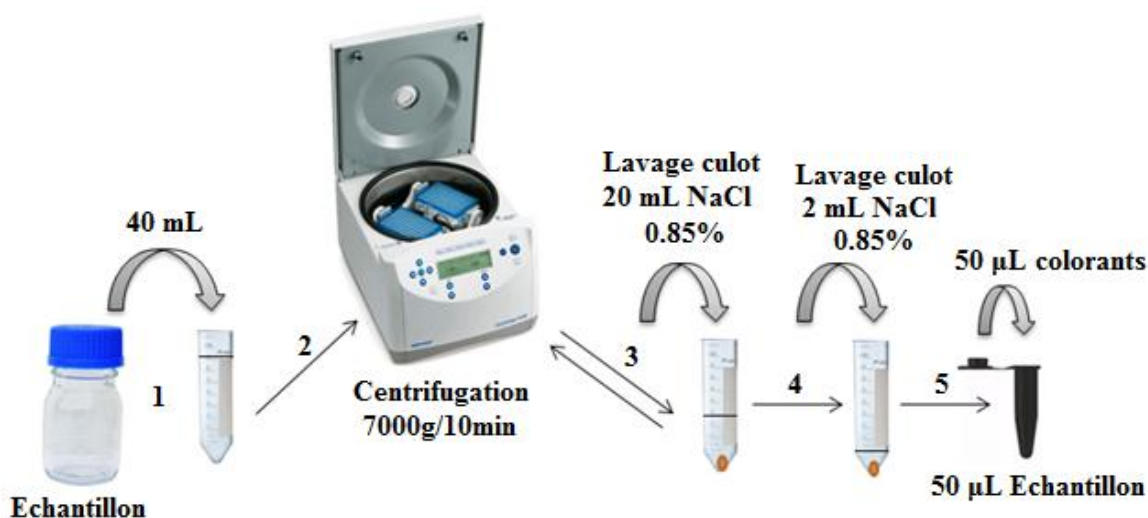


Figure IV- 1: Protocole de marquage d'une suspension bactérienne via le kit LIVE DEAD Backlight: prélèvement (1), concentration (2), lavage (3), dilution (4), marquage (5).

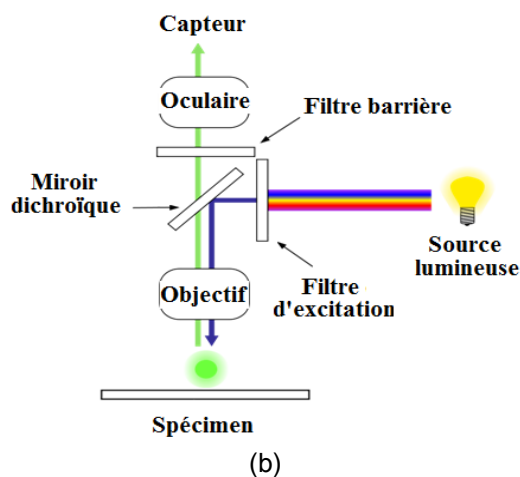
La visualisation de la fluorescence émise par les marqueurs introduits dans les échantillons est réalisée via un microscope à épi fluorescence (*BX60-Olympus*, Figure IV-2(a)). Ce microscope photonique est composé de deux sources de lumières. Une lampe halogène pour étudier les échantillons en transmission comme avec les microscopes de routine classiques. Une deuxième lampe à arc qui possède des raies caractéristiques dans son spectre permettant d'exciter les fluorochromes utilisés pour marquer l'échantillon.

Le trajet optique de ce microscope (Figure IV-2(b)) comprend différentes lentilles, des prismes, des cubes de fluorescences, des objectifs et des oculaires et un capteur de type CCD (Charge-Coupled Device). Le microscope est équipé d'une caméra permettant de visualiser directement les champs observés sur ordinateur et d'un jeu de filtres. Un premier filtre

d'excitation permettant de sélectionner les longueurs d'ondes qui vont exciter l'échantillon. Un deuxième filtre d'émission permettant d'éliminer certaines longueurs d'ondes émises par le fluorochrome en réponse à l'excitation.



(a)



(b)

Figure IV- 2: (a) Microscope à épi fluorescence, (b) Trajet optique.

Les champs microscopiques observés sont directement visualisés sur l'écran de l'ordinateur. Un paramétrage préalable des filtres d'émission et de la caméra du microscope permet d'optimiser l'intensité de la fluorescence émise par l'ensemble des cellules sans qu'elles soient surexposées à l'irradiation. La surface du filtre est visionnée sous un grossissement 100X (*lens UPLANFL, Bandpass Chroma filter 31001*), puis photographiée.

I-2-3 Validation du protocole

La validation du protocole est réalisée sur deux échantillons contrôles (E-) et (E+), prélevés à partir d'une suspension d'*E. coli* chargée initialement à 10^9 NPP.L⁻¹. L'échantillon (E-) est autoclavé à 121°C pendant 10 min de manière à obtenir 100% de bactéries endommagées. L'échantillon (E+), contenant 100% de cellules intègres, est conservé. Les deux échantillons sont traités par le marquage Live Dead suivant le protocole établi puis observés sous le microscope à épifluorescence.

Les résultats des observations microscopiques des échantillons de contrôles en présence du mixte Syto 9/PI sont présentés sur la figure IV-3.

La coloration verte des bactéries obtenue dans l'échantillon (E+) confirme que les cellules à parois intègres permettent la pénétration du fluorochrome Syto 9 (vert) mais bloquent le passage du fluorochrome PI (rouge). La coloration rouge des bactéries issues de l'échantillon (E-) confirme le passage du fluorochrome PI à l'intérieur des cellules endommagées par l'effet du traitement thermique.

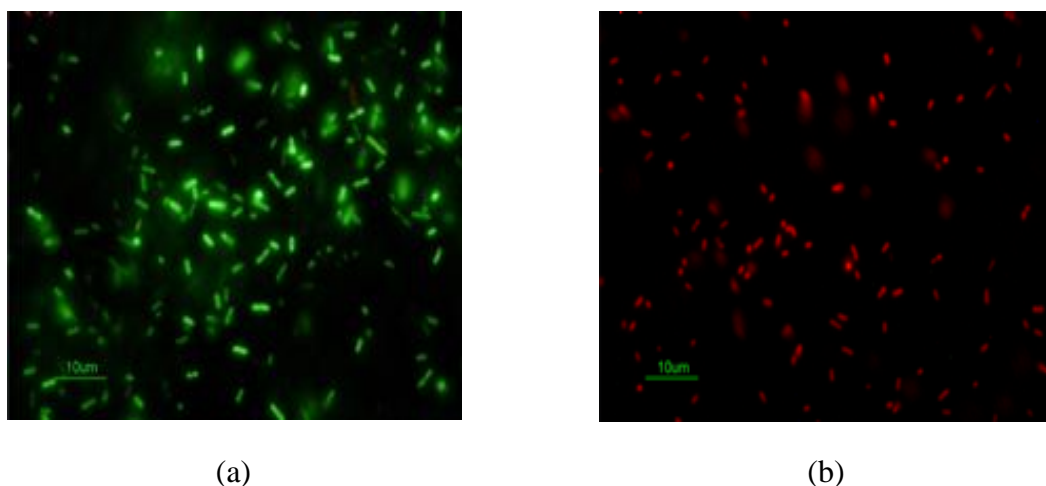


Figure IV- 3: Observation sous microscope à épi fluorescence du contrôle (E+) (a) ; du contrôle (E-) (b).

Ces résultats valident le protocole de marquage établi. Ce dernier représente un outil pertinent qui doit permettre, à priori, de visualiser l'état d'intégrité membranaire des bactéries au cours du traitement photocatalytique.

I-3 Analyse quantitative par q-PCR

I-3-1 Principe

La q-PCR (quantitative Polymerase Chain Reaction), appelée aussi réaction de polymérisation en chaîne en temps réel est une technique biologique qui permet la quantification de la quantité d'ADN génomique des bactéries (viables et mortes) [Nocker et al., 2007]. Elle permet implicitement d'évaluer la concentration de la totalité des bactéries présentes dans le milieu. Cette technique qui se base sur la polymérisation en chaîne d'acide nucléique (ADN) est sensible aux faibles concentrations. Avant l'amplification du gène par q-PCR, il est nécessaire d'extraire l'ADN génomique de la bactérie.

L'extraction d'ADN comporte généralement 3 étapes : une lyse des cellules pour libérer l'ADN, une purification pour le débarrasser de tout artéfact et enfin, une précipitation. La lyse des cellules peut être réalisée de manière chimique grâce à l'action d'enzymes qui vont créer des brèches dans les parois cellulaires et de détergents (ex. Triton X100). Cette lyse peut également être réalisée de manière mécanique (choc thermique, ultrason) et peut aussi combiner une action chimique ou mécanique conjointement [Betelli, 2013]. La purification consiste en l'élimination des protéines et des autres acides nucléiques (ex. ARN). L'élimination des ARN se fait, le plus souvent, grâce à une enzyme thermostable, la RNase. L'ADN purifié est finalement précipité par addition d'un alcool (ex. isopropanol).

L'amplification de l'ADN est réalisée *in vitro* dans une machine qui permet d'automatiser la réaction de la polymérisation en chaîne, le thermocycleur. Ce dernier est associé à un spectrofluorimètre. L'amplification se déroule suivant trois étapes: la dénaturation, qui permet de séparer les brins d'ADN, l'hybridation qui permet d'hybrider des amorces (séquences d'acide nucléique spécifiques à l'ADN ciblé) sur les brins d'ADN et l'élongation qui donne lieu au dédoublement de ces derniers (à travers l'action d'enzymes polymérases). Chaque étape est conduite suivant un palier de température qui lui est thermodynamiquement favorable. Ces paliers sont prédéfinis au préalable dans le thermocycleur.

Initialement, une molécule fluorochrome, le *SYBR green*, est introduite dans l'échantillon d'ADN à amplifier. Cette molécule ne fluoresce qu'une fois fixée sur l'ADN. L'amplification de l'ADN initiale (quantité recherchée) est réalisée suivant des cycles. La cyclisation permet d'amplifier en parallèle la fluorescence de la molécule *SYBR green* jusqu'à ce qu'elle atteigne un seuil de référence. Le nombre de cycle (C_t), permettant ce niveau de fluorescence, est appelé 'Cycle Threshold'. Il permet de retrouver la quantité d'ADN initialement présente dans l'échantillon en se référant à une droite d'étalonnage exprimant des quantités d'ADN initiales connues en fonction de valeurs de C_t prédéfinies ($ADN_{initial}$ vs C_t).

I-3-2 Protocole expérimental

I-3-2-1 Extraction/purification de l'ADN

L'extraction est réalisée selon un kit '*Qiaamp DNA Stool Mini*' fourni par la compagnie '*Qiagen*'. Une seule extraction d'ADN est effectuée par échantillon selon le protocole suivant. Un volume de 40 mL de l'échantillon d'*E. coli* à analyser est incubé 5 min à 95 °C en présence d'un tampon d'ASL. Cela permet de disperser les bicouches lipidiques des

membranes cellulaires et de dénaturer les protéines associées aux molécules d'ADN. Après une rapide centrifugation via une centrifugeuse de paillasse (*MiniSpin, Eppendorf*), le surnageant obtenu est mixé à un volume d'isopropanol (1v/v), laissé au repos pendant 10 min à température ambiante ensuite centrifugé à nouveau à vitesse maximale durant 15 min. Finalement, le culot obtenu est mis en suspension dans de l'eau Mili-Q puis mélangé à une solution de RNase d'une concentration finale de 0.1 g.L⁻¹. L'échantillon est incubé ensuite à 37°C pendant 10 min. La solution d'ADN obtenue est purifiée suivant les prescriptions du kit '*Qiagen*' utilisé.

I-3-2-2 Amplification de l'ADN

Les essais d'amplification de l'ADN sont réalisés en triplicatas utilisant des microplaques à 96 puits de q-PCR (*Eppendorf*). Cette étape est réalisée dans un thermocycleur *Mastercycler®ep Realplex* (*Eppendorf*). Le mélange réactionnel introduit dans le thermocycleur (25 µL) consiste en une mixture d'une solution d'ADN purifié de 5 µL, de 12.5 µL du colorant fluorescent (EXPRESS q-PCR SYBR Green ER 2X, *Invitrogen*) et d'une suspension d'amorces spécifiques à *E. coli* (ciblant le gène 'uidA'). Les amorces sont inoculées à une concentration finale de 100 nM [Heijnen et Medema, 2008]. Suite à une incubation initiale du mélange réactionnel à 95°C pendant 20s, 40 cycles de dénaturation (15s à 95°C) puis d'hybridation / élongation (60s à 60°C) sont réalisés. Des témoins contrôles 'négatifs' (pas d'ADN ajouté) sont aussi préparés. Pour chaque échantillon d'ADN, deux dilutions différentes sont amplifiées. Les concentrations initiales des dilutions sont comparées par paire afin de s'assurer de l'absence d'une éventuelle inhibition de la réaction de q-PCR.

Pour chaque essai d'amplification, la droite d'étalonnage (ADN_{initial} vs C_t) est réalisée en utilisant des dilutions décimales successives d'une solution de pEX-A de plasmides (*Eurofins, MWG, Operon*) de composition connue et contenant la séquence génétique ciblée.

I-4 Analyse quantitative par v-q-PCR

I-4-1 Principe

La v-q-PCR (viability quantitative Polymerase Chain Reaction) est une méthode qui combine la q-PCR et l'utilisation d'un agent intercalant tel que le monoazide d'éthidium (EMA) ou le monoazide de propidium (PMA) [Rudi et al. 2005 ; Nocker et al., 2006; Soejima et al. 2007; Soejima et al. 2008 ; Chang et al. 2009; Chen and Chang 2010]. La photolyse de ces agents en

présence de molécules d'ADN produit des nitrènes qui se lient de manière covalente avec les brins d'ADN [Delgado-Viscogliosi *et al.* 2005]. Cette liaison forte bloque l'amplification et donc la quantification de ces derniers (Figure IV-4).

Le PMA ou l'EMA permettent d'inhiber l'amplification de tout ADN accessible (ADN nu ou ADN appartenant à des cellules dont la paroi est endommagée). Cependant, ils sont parfaitement incapables de traverser une paroi bactérienne intègre. Ainsi, lors de l'étape d'amplification, seule l'ADN appartenant aux cellules intègres (supposées viables) est pris en compte. La combinaison de la q-PCR et du PMA ou EMA permet ainsi une détection sélective des bactéries viables dans le milieu.

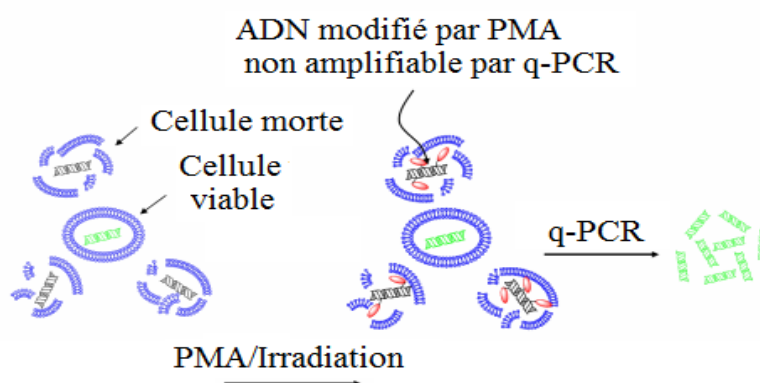


Figure IV- 4: Principe de la détection sélective des bactéries viables par v-q-PCR utilisant le PMA.

Cette méthode est complémentaire à la q-PCR. La comparaison entre le résultat de la q-PCR (ADN total) et celui de la v-q-PCR (ADN des bactéries viables) permet à priori de distinguer les bactéries viables des bactéries mortes.

I-4-2 Protocole expérimental

L'agent intercalant utilisé dans notre étude est le monoazide de propidium. La solution de PMA est fournie par la compagnie Biotium (Hawward, CA). Cette solution concentrée initialement à 20 mM est diluée dans de l'eau Milli-Q puis stockée à -20°C. Pour chacun des échantillons d'*E. coli* à analyser, un aliquote de la solution mère de PMA d'un volume de 10 µL est utilisé. Les manipulations des solutions de PMA sont réalisées sous des conditions d'éclairage minimal.

A partir d'un échantillon d'*E. coli*, un volume de 40 mL est prélevé puis centrifugé à 7,000g pendant 10 min (Centrifugeuse 5430, *Eppendorf*). Le culot obtenu est lavé dans une solution de NaCl (0.85%) puis resuspendu dans 2 mL de la même solution saline. A partir de cette solution, deux échantillons d'un volume de 400 µL sont prélevés. Le premier échantillon qu'on désigne par (PMA+) est mixé à un aliquote de 10 µL de PMA, tandis que le deuxième échantillon, qu'on désigne par (PMA-) est conservé.

L'échantillon contenant le PMA (PMA+) est stocké dans le noir pendant 5 min puis exposé à une lampe halogène (*PMA-Lite™ LED, Biotium*) (Figure IV-5) pendant 5 min afin d'amorcer l'adhésion du PMA à l'ADN accessible de *E. coli*. Au cours de l'irradiation, une ventilation de l'échantillon est maintenue constante afin d'éviter toute élévation de température.

Finalement, les témoins (PMA+) et (PMA-) sont centrifugés à 14.000 rpm pendant 10 min via une centrifugeuse de paillasse (*Minispin, Eppendorf*) puis stockés à 20°C.



Figure IV- 5: Amorçage de l'adhésion du PMA aux brins d'ADN par irradiation.

I-4-3 Validation du protocole

Afin de valider l'effet inhibiteur du PMA sur l'amplification de l'ADN auquel il se conjugue, un protocole de laboratoire est établi. A partir d'une suspension mère d'*E. coli* fraîchement cultivée et chargée initialement à 10^9 NPP.L⁻¹, deux aliquotes de 40 mL sont prélevés. L'un des aliquotes est autoclavé à 121 °C pendant 15 min afin de lyser les cellules bactériennes et libérer leurs molécules d'ADN. L'autre est conservé. Les deux aliquotes (autoclavé et non) sont traités par le PMA suivant le protocole expérimental décrit précédemment. Pour chaque aliquote, deux témoins, à savoir un témoin (PMA+) et un témoin (PMA-) sont obtenus. Une analyse q-PCR est réalisée sur chacun de ces témoins.

La comparaison des résultats des témoins (PMA+) et (PMA-) de l'aliquote autoclavé montre une forte réduction (99.9%) du signal d'amplification de l'ADN contenu dans le témoin (PMA+) comparé au témoin (PMA-). Des réductions similaires de signal de q-PCR sont

observées dans des travaux antérieurs [Delgado-Viscogliosi et al., 2009]. Les deux témoins, issus de l'aliquote autoclavé, contiennent majoritairement de l'ADN nu ou accessible à l'intérieur de cellules lysées. Ainsi la réduction significative de l'amplification de l'ADN observée dans le témoin PMA+ confirme l'action inhibitrice du composé PMA. Par ailleurs, les signaux d'amplification de l'ADN contenu dans les deux témoins (PMA+) et (PMA-), issus de l'aliquote non autoclavé, montrent des résultats quasi identiques. Ce résultat confirme l'incapacité du PMA à pénétrer dans les cellules intègres. L'effet inhibitoire du PMA sur l'amplification de l'ADN nu, ainsi que son incapacité à pénétrer à l'intérieur des cellules intactes valide le protocole de laboratoire mis en œuvre pour la détection sélective des bactéries viables.

II- Mécanisme d'inactivation bactérienne par voie photocatalytique

Au vue de la littérature, l'inactivation bactérienne mesurée au cours du traitement photocatalytique peut être due à différents mécanismes d'action. Ces derniers sont l'effet combiné du rayonnement UVA et de l'action d'espèces radicalaires générées au cours de la réaction photocatalytique. Les rayonnements UVA sont décrits comme létales envers le matériel génétique cellulaire [Tyrell, 1973]. Ce type de rayonnement est susceptible d'oxyder également des lipides constituant les membranes cellulaires ainsi qu'une carbonylation des protéines responsables du métabolisme respiratoire des microorganismes [Bosshard et al., 2010 ; Santos et al., 2013]. D'autres mécanismes sont rapportés dans la littérature ; destruction de la coenzyme CoA intervenant dans différents métabolismes biochimiques cellulaires [Matsunaga et al., 1985] ; destruction de protéines et de molécules d'ARN nécessaires à la réplication cellulaires [Saito et al., 1992].

Cependant, le mécanisme le plus communément admis est basé sur l'attaque de la paroi cellulaire bactérienne par des espèces radicalaires oxygénées tels que les ions hydroxyles OH° [Malato et al. 2009 ; Pablos et al., 2011]. Les dommages cumulatifs causés par ces espèces conduisent tout d'abord à la lyse membranaire de la cellule, via une série de peroxydation lipidiques [Maness et al., 1999] puis, à la destruction progressive des constituants intracellulaires, tels que les molécules d'ADN.

II-1 Mise en évidence de la lyse membranaire

Afin de mettre en évidence ce mécanisme d'action, les microphotographies obtenues par la technique LIVE DEAD d'échantillons d'*E. coli* prélevés au début du traitement photocatalytique ($t = 0$ min) puis à 10 min et 22 min d'irradiation sont utilisées. Il s'agit de mettre en évidence un éventuel endommagement structurel des membranes bactériennes au cours du processus de dégradation photocatalytique. Les résultats des microphotographies obtenues sont présentés dans la figure IV-6.

Au vue de ces microphotographies, il ressort que les cellules observées à $t=0$ min présentent une morphologie intacte. Elles se présentent sous la forme de bacille, de 3 μm à 5 μm de longueur et de 0.2 à 0.5 μm de largeur. La coloration verte de la totalité des cellules par l'effet du marqueur Syto9 confirme leur intégrité membranaire initiale.

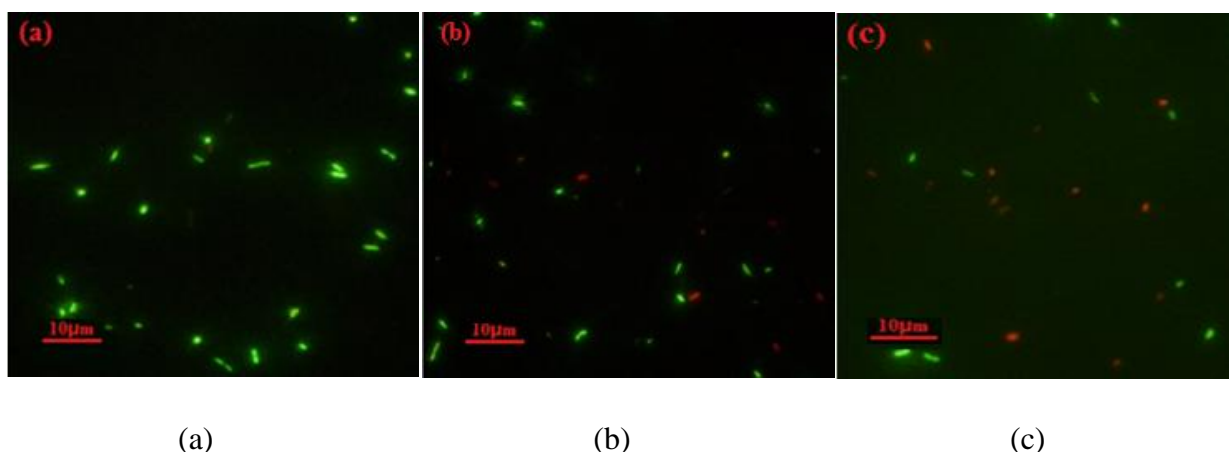


Figure IV- 6: Microphotographies d'échantillons d'*E. coli* traités par marquage LIVE DEAD et observés sous microscope à épifluorescence au cours du traitement photocatalytique: début du traitement ($t=0$ min) (a), à 10 min d'irradiation (b), à 22 min d'irradiation (c).

Au cours du traitement, une apparition de cellules 'rouges' est observée, indiquant un changement d'état dans la structure membranaire cellulaire. La pénétration du fluorochrome rouge (PI) est le résultat prouvé d'une lyse membranaire permettant au colorant de s'infiltrer à l'intérieur des cellules. Ce résultat met en évidence le phénomène de la lyse membranaire par l'effet photocatalytique. Les observations aux différents temps de traitement permettent, par ailleurs, de constater une augmentation du nombre de cellules dégradées. Ce résultat est en accord avec la baisse des concentrations bactériennes mesurées par la méthode de culture

classique, observée notamment tout au long de cette étude. Il traduit la perte de la cultivabilité cellulaire au cours du traitement.

II-2 Cinétiques de dégradation bactérienne

Les cinétiques d'inactivation bactérienne sont établies à partir de conditions définies. Le traitement est appliqué sur une suspension d'*E. coli* de charge bactérienne initiale égale à 10^7 NPP.L⁻¹. L'expérimentation photocatalytique est réalisée sous une densité de flux d'irradiation de 35 W.m⁻² et utilisant le TiO₂ Degussa P25 à une concentration optimale de 1.66 g.L⁻¹.

La méthode de culture utilisée (microplaque MUG/*E. coli*) permet d'obtenir des résultats de concentrations bactériennes dans un intervalle de confiance à 90%. Les concentrations bactériennes obtenues par q-PCR et v-q-PCR sont calculées à partir de 3 à 6 mesures expérimentales, en fonction de l'échantillon analysé.

Les courbes d'inactivation bactérienne obtenues au cours du temps d'irradiation par q-PCR, v-q-PCR et par culture sont présentées sur la figure IV-7. Ces courbes reportent respectivement, la cinétique de réduction de l'ADN total présent dans le milieu réactif, celle de l'ADN des bactéries intègres (qui renseigne implicitement sur la réduction des bactéries dites viables) et celle des bactéries viables cultivables (VBC).

Les profils cinétiques obtenus par les différentes techniques se distinguent nettement. Ils montrent que le traitement photocatalytique induit une réduction de la population bactérienne cible indépendamment de la technique choisie. Ainsi, trois phases peuvent être distinguées.

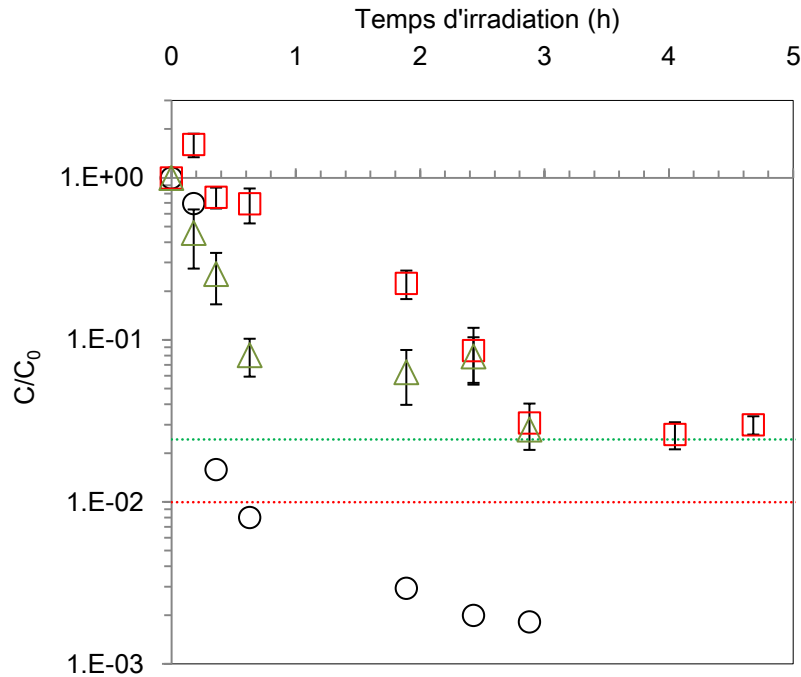


Figure IV- 7: Cinétiques d'inactivation bactérienne d'*E. coli* en fonction du temps d'irradiation mesurés par : culture (\circ), q-PCR (\square) et v-q-PCR (Δ) ; limite de quantification par q-PCR (---), limite de quantification par v-q-PCR (---).

La première phase apparaît sur la période de 0 h à 0.6 h d'irradiation. Lors de cette phase, les populations bactériennes dites viables cultivables (VBC) et viables décroissent exponentiellement mais à des vitesses différentes. Elles atteignent un taux de réduction respectif de 2.3 log et 1.4 log. Par contre, la concentration d'ADN total reste relativement stable.

Au vue de cette première phase, il ressort que la réduction des bactéries cultivables est plus rapide et de plus grande amplitude que les bactéries viables. Cette tendance permet de suggérer que les bactéries peuvent être atteintes par différents degrés de dégradation : L'effet photocatalytique affecte d'abord l'état physiologique des bactéries (induction de l'état VBNC) puis leur état physique (lyse membranaire). Les mécanismes qui induisent à l'état VBNC sont insuffisamment maîtrisés [Pinto et al., 2013 ; Carré et al., 2013]. Certaines études suggèrent qu'il s'agit d'une stratégie des cellules pour résister aux conditions environnementales difficiles [Oliver, 1993 ; Winfield et Groisman, 2003; Pinto et al., 2013]. La destruction membranaire, qui consiste principalement en une série de peroxydation lipidique [Maness et al., 1999] est en revanche un phénomène plus lent. La membrane cellulaire doit subir un certain nombre d'attaques radicalaires avant de se détruire [Malato et

al., 2009]. D'autres phénomènes peuvent expliquer cette divergence entre les mesures des bactéries cultivables et des bactéries viables [Blanco-Galvez et al., 2007 ; Pablos et al., 2011 ; Zhukova et al., 2012 ; Carré et al., 2013] : une infiltration potentielle de nano particules de TiO_2 à l'intérieur des cellules lysées [Blanco-Galvez et al., 2007] provoquant un endommagement intracellulaire supplémentaire (sans lyser éventuellement la paroi membranaire) ; un effet cytotoxique supplémentaire causé par le contact prolongé entre les bactéries et les particules de TiO_2 lors de l'étape de culture [Zhukova et al. 2012].

Par ailleurs, la stabilité de la quantité d'ADN, mesurée par q-PCR en début d'expérimentation, suggère que les molécules d'ADN qui font parties intégrantes des cellules endommagées restent initialement inaccessibles aux radicaux libres générés par la réaction photocatalytique.

Lors de la deuxième phase, sur la plage de 0.6 h à 2.4 h d'irradiation, la quantité d'ADN commence à décroître linéairement jusqu'à atteindre un taux de réduction de 1 log, tandis que les cellules viables se stabilisent. Parallèlement, la concentration des cellules viables cultivables continue à décroître jusqu'à atteindre un taux de réduction final égal à 2.8 log. Cette deuxième phase suggère que les molécules d'ADN sont relarguées dans le milieu réactif. Elles deviennent alors à la portée des particules de TiO_2 ce qui augmente significativement leur taux de destruction. En présence d'une quantité d'espèces radicalaires donnée, une compétition se crée entre les molécules d'ADN accessibles, les composantes cellulaires ainsi que les sous produits éventuellement formés dans le milieu (cétones, aldéhydes, acides carboxyliques) [Benabbou et al., 2007 ; Pigeot-Rémy et al., 2011]. Cette compétition explique potentiellement la diminution puis la stabilisation temporaire de la vitesse de réduction des bactéries viables.

En fin de cette deuxième phase, il apparaît que les mesures obtenues par v-qPCR convergent vers celles obtenues par q-PCR. Ce résultat permet de conclure que les molécules d'ADN excrétées dans le milieu réactif sont totalement dégradées. La concentration en ADN totale mesurée correspond ainsi à celle des bactéries viables.

Finalement, lors de la troisième phase, sur la plage comprise entre 2.4 h et 3 h, la concentration des bactéries viables décroît en dessous de la limite de détection tandis que la quantité d'ADN se stabilise à un taux de réduction final de 1.8 log. Cette tendance est due éventuellement à la présence de sous produits de dégradation dans le milieu réactif qui rentrent en compétition avec les cellules bactériennes ciblées [Pigeot-Rémy et al., 2011].

Au vue de ces résultats, il ressort que l'action de la photocatalyse hétérogène sur la bactérie *E. coli* semble affecter successivement la cultivabilité de la cellule, son intégrité membranaire et enfin son ADN génomique. La différence observée entre la mesure obtenue par q-PCR et v-q-PCR tout au long du traitement a également été décrite dans la littérature [Venieri et al., 2012]. Elle s'explique par le fait que la q-PCR tient compte aussi bien de l'ADN cellulaire que de l'ADN nu (ADN intracellulaire accessible ou extracellulaire). Cette réalité physique inhérente à la q-PCR implique que celle ci ne permette pas d'accéder uniquement aux bactéries viables. Elle justifie le fort intérêt de la v-q-PCR.

III- Résistance bactérienne au traitement photocatalytique

La cinétique d'inactivation de la bactérie *E. coli* par voie photocatalytique est généralement décrite dans la littérature par trois étapes successives [Marugan et al., 2008 ; Chong et al., 2010]. Une première étape correspondant à un 'épaulement' de la courbe. Durant cette étape, la concentration bactérienne reste quasiment constante pendant un temps de latence relativement de courte durée. La deuxième région est marquée par une décroissance logarithmique forte de la concentration bactérienne : elle indique que la vitesse de dégradation suit une loi de premier ordre avec la concentration en espèces cibles. Pour finir, la vitesse d'inactivation décroît considérablement : la courbe marque une stabilisation appelée 'la queue'. La concentration bactérienne forme alors un palier. La présence de ces trois régions est largement observée et décrite dans la littérature [Marugan et al., 2008 ; Malato et al., 2009]. Elle est représentative de l'inactivation bactérienne ayant cours lors d'un processus de dégradation dans un procédé de photocatalyse, mais également d'autres POA [Xiong et al., 1999]. Les mécanismes intrinsèques donnant lieu à ces différentes phases sont insuffisamment connus et maîtrisés. L'apparition de la phase de latence en début d'expérimentation pourrait être le résultat d'une résistance initiale du microorganisme aux attaques radicalaires induites par la photo réaction. Dans ce cas, la concentration bactérienne commence à décroître à partir d'un seuil de dégradation de la cellule [Marugan et al., 2008]. D'autre part, la présence du palier en fin d'expérimentation est rendue potentiellement à la formation de sous produits de dégradation [Benabbou et al., 2007 ; Pigeot-Rémy et al., 2011] ou encore, à une nouvelle résistance développée par les microorganismes cibles au cours du traitement [Berney et al., 2006].

Les techniques de quantification bactérienne utilisées dans cette étude informent sur l'état des bactéries au cours du traitement photocatalytique, en distinguant les cellules dites viables cultivables de la totalité des cellules dites viables. Les profils des concentrations obtenus donnent lieu à des cinétiques bi-phasiques (deux phases de type exponentiel). Cette allure apparaît aussi bien pour le suivi des bactéries viables cultivables que les bactéries viables. Ces expérimentations, contrairement à ce qui est classiquement mis en évidence dans la littérature, ne mettent pas en évidence de phase de latence [Marugan et al., 2008]. Soit elle n'a pas lieu dans la configuration de notre étude. Soit elle est masquée par un autre phénomène qui a lieu simultanément et qui est plus rapide. Par exemple, le phénomène d'adhésion bactérienne en début d'expérimentation peut impliquer une décroissance de la concentration due au transfert des cellules de la phase liquide vers la surface du catalyseur. La mesure de la concentration bactérienne en présence du catalyseur, appliquée communément dans les travaux, [Matsunaga et al., 1985 ; Saito et al., 1992 ; Sunada et al., 2003 ; Cheng et al. 2007 ; Pigeot-Rémy et al., 2011] ne permet pas de visualiser la cinétique de décroissance due à l'adhésion. Dans notre cas, les mesures sont effectuées après séparation du catalyseur. L'adhésion bactérienne aux premiers temps peut ainsi impliquer une diminution supplémentaire de la concentration bactérienne dans le liquide impliquant éventuellement la disparition de la phase de latence.

Au vue de la littérature, différents mécanismes peuvent donner lieu à une cinétique bi-phasique [Hellweger et al., 2009]. Hellweger, s'est appuyé sur différentes études qui expliquent les mécanismes donnant lieu à des cinétiques de décroissance bi-phasiques. Il rapporte principalement ce type de cinétique à la présence de deux fractions de populations bactériennes ayant différentes résistances vis à vis du traitement appliqué. Ces capacités de résistance sont rapportées éventuellement à une mutation cellulaire, une différenciation non-génétique des cellules, une variabilité dans le cycle cellulaire ou à une résistance développée au cours du traitement.

D'autres travaux soulignent ce même mécanisme pour décrire les processus d'inactivation de bactéries dans les sols, par voie thermique et par la voie des biocides [Geeraerd et al., 2000 ; Lambert et Johnston, 2001 ; Watcharasukarn et al. 2009]. En se basant sur ces travaux, les cinétiques de décroissance bactérienne obtenues dans notre étude par v-q-PCR et culture sont analysées en assumant la coexistence de deux types de populations bactériennes. Une première population d'*E. coli* qui serait sensible au traitement photocatalytique. Une deuxième qui serait plus résistante. La démarche suivie consiste à proposer un modèle empirique permettant de distinguer et évaluer la fraction de chacune de ces populations. Il

s'agit de déterminer puis de comparer ces deux fractions bactériennes dans les deux phases cinétiques observées. L'objectif est d'établir l'efficacité du traitement photocatalytique sur chacune de ces fractions.

Le modèle choisi (Equation IV-1) permet de reproduire les cinétiques bi-phasiques [Watcharasukarn et al. 2009]. Il assume que chaque phase cinétique correspond à l'inactivation d'une fraction de population bactérienne de résistance différente. Ce modèle tient compte de la fraction des espèces ciblées ainsi que de leurs constantes cinétiques propres.

$$\frac{C}{C_0} = f \cdot e^{(-K_1 \cdot t_r)} + (1 - f) \cdot e^{(-K_2 \cdot t_r)} \quad \text{Eq. IV-1}$$

Où C_0 est la concentration bactérienne initiale, f et $(1-f)$ sont les fractions des concentrations des populations bactériennes sensibles et résistantes au traitement et K_1 , K_2 sont les constantes cinétiques de premier ordre des vitesses d'inactivation respectives de ces deux populations.

L'identification des paramètres f , K_1 et K_2 est réalisée via le logiciel 'Matlab' et se base sur la minimisation de l'Erreur Relative Moyenne (ERM %) suivant l'équation IV-2:

$$ERM (\%) = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n \left| \left(\frac{C_{exp} - C_i}{C_{exp}} \right) \right| \cdot 100 \quad \text{Eq. IV-2}$$

Où n est le nombre de points expérimentaux, C_{exp} et C_i sont les valeurs respectives des concentrations expérimentales et simulées par le modèle.

Les profils des concentrations bactériennes expérimentales mesurées par culture et v-q-PCR ainsi que les résultats de la simulation sont présentés dans la figure IV-8. Afin de s'assurer de la bonne reproductibilité des résultats, l'expérimentation photocatalytique est réalisée en dupliquât. Les traitements sont réalisés sur une suspension d'*E. coli* de charge bactérienne initiale de 10^7 NPP.L⁻¹, utilisant le TiO₂ Degussa P25 à une concentration optimale de 1.66 g.L⁻¹ et sous une densité de flux d'irradiation de 35 W.m⁻².

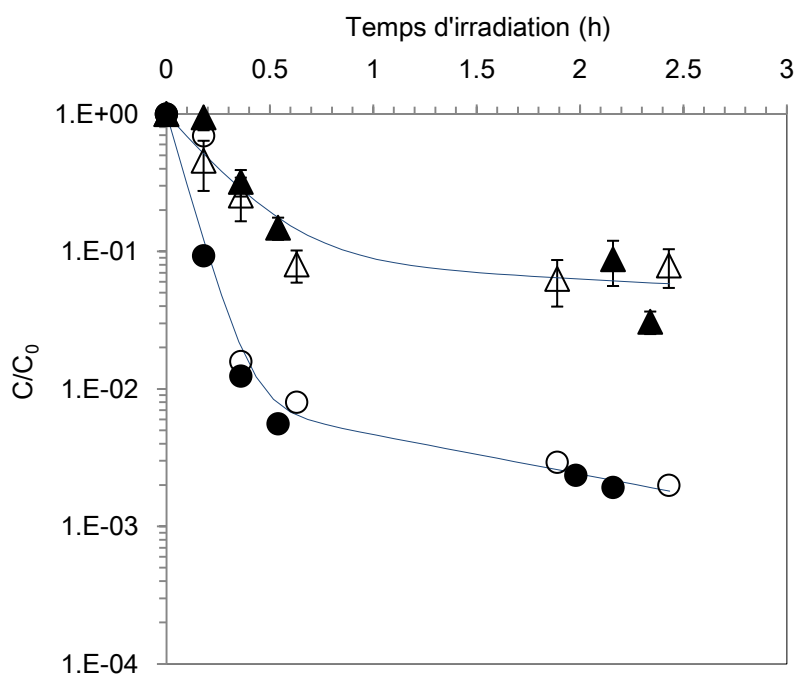


Figure IV- 8: Mesures expérimentales et simulées (trait continu) de l'inactivation d'E. coli par photocatalyse hétérogène utilisant le Degussa P25 et sous irradiation 35 W.m^{-2} par: culture (▲), répliquât culture (Δ) ; v-q-PCR (●), répliquât v-q-PCR (○).

Au vue des profils des concentrations bactériennes obtenus expérimentalement aussi bien par culture que par v-q-PCR, les mesures de l'évolution de la concentration au cours du traitement photocatalytique sont reproductibles.

Les profils des concentrations expérimentales et simulées obtenus par les deux techniques démontrent que le modèle cinétique permet une représentation satisfaisante de l'évolution des concentrations bactériennes. La bonne concordance (ERM <15%) entre les valeurs des concentrations expérimentales et théoriques valide le modèle cinétique établi. Elle conforte également l'éventuelle existence de deux populations bactériennes de résistances différentes au traitement.

Les résultats décrits par cette loi empirique permettent d'identifier deux populations bactériennes ayant des résistances différentes vis-à-vis du traitement photocatalytique. Une première population sensible au traitement de fraction f et de vitesse de décroissance régie par un coefficient de premier ordre K_1 ; elle traduit la décroissance de la concentration dès les premiers instant de traitement. Une deuxième population résistante au traitement, de fraction $(1-f)$ et de vitesse de décroissance caractérisée par un coefficient de premier ordre K_2 ; elle

traduit le ralentissement de la vitesse de décroissance et mène à l'apparition d'une concentration palier légèrement décroissante.

Les coefficients cinétiques intervenant dans la réaction photocatalytique, identifiés aussi bien dans le cas des mesures par culture que par v-q-PCR, sont présentés dans le tableau IV-1.

La comparaison entre les coefficients cinétiques obtenus par culture et v-qPCR montre que la culture surestime l'effet bactéricide du traitement. Ce résultat est modulé en comparant les temps de réduction décimale T_{90} ainsi que les constantes de vitesses d'inactivation K_1 et K_2 des populations bactériennes identifiées par les deux techniques.

Tableau IV- 1: Paramètres de régression non linéaire du modèle cinétique.

Paramètre Modèle	Culture	v-q-PCR
T_{90} (h)	0.18	0.85
Constante cinétique fraction résistante (K_1, h^{-1})	0.66	0.18
Constante cinétique fraction sensible (K_2, h^{-1})	21	4.2
Fraction de la population bactérienne résistante (f) (copies de gène/ copies de gène)	0.009	0.09
Fraction de la population bactérienne sensible ($1-f$) (copies de gène/copies de gène)	0.991	0.91
ERM (%)	10	14.2

Le temps de réduction décimal évalué par la technique de culture est 4.7 fois inférieur à celui obtenu par v-q-PCR. De même, la technique de culture surestime la vitesse d'inactivation des populations bactériennes résistantes et sensibles au traitement photocatalytique : les constantes cinétiques des fractions des populations résistantes (K_1) et sensibles (K_2) obtenues par la méthode de culture sont supérieures à celles obtenues par v-q-PCR d'un facteur de 3.66 et 5 respectivement.

Par ailleurs, les fractions f et $(1-f)$, obtenues indépendamment de la technique de mesure utilisée, démontrent que la population bactérienne résistante au traitement photocatalytique est

significativement plus faible que la population bactérienne qui y est sensible. La population bactérienne résistante évaluée par culture est totalement négligeable et ne représente que 0.9% de la population bactérienne globale. Ce résultat (bien que limité à l'exploitation d'une seule expérimentation) tend à montrer qu'il n'est pas nécessaire de prendre en compte deux types de populations pour décrire correctement les profils de population bactérienne évaluée par culture. Ceci confirme le sens de l'approche plus physique adoptée lors du second chapitre pour développer un modèle capable de décrire les profils de populations pour différentes conditions de fonctionnement. Celle-ci est en effet basée sur l'existence d'un seul type de population.

Dans le cas de la v-qPCR, la population qualifiée de résistante s'accroît pour atteindre une valeur qui reste inférieure à 10%. Ainsi, si la technique de culture semble surestimer l'effet bactéricide d'un traitement, dans les deux cas, la faible présence de bactéries résistantes au terme de l'expérimentation confirme l'efficacité d'inactivation bactérienne du traitement photocatalytique. Ces résultats tendent à démontrer la pertinence d'utiliser les différentes techniques de quantification afin de qualifier correctement l'efficacité du traitement appliqué.

Conclusion

L'efficacité du traitement par photocatalyse hétérogène sur la bactérie *E. coli* est classiquement évaluée en utilisant des techniques de culture telles que les microplaques à épi fluorescence MUG/*E. coli* [NF EN 9308-3-1999]. Le principe de quantification de cette technique considère implicitement que la propriété d'une bactérie à être cultivable dans/sur un milieu de culture est une caractéristique suffisante pour définir la qualité sanitaire d'un effluent. Bien que cette méthode de quantification soit aujourd'hui encore la norme dans le suivi de la population bactérienne d'*E. coli*, cette hypothèse n'est pas toujours vérifiée. En effet, une bactérie viable mais soumise à des contraintes environnementales (stress, etc.) peut perdre sa capacité à croître sur un milieu de culture et entrer dans un état de dormance appelé état VBNC (viable non cultivable). Ainsi, des cellules viables mais non cultivables dans les conditions standard utilisées par nos méthodes peuvent exister. Par conséquent, la quantification de la population bactérienne par culture peut être biaisée. Elle peut être insuffisante pour qualifier un risque sanitaire.

Dans ce chapitre, l'inactivation de la bactérie *E. coli* a été réalisée dans le montage de laboratoire (chapitre 2), utilisant le catalyseur Degussa P25 et opérant sous une irradiation contrôlée d'une densité égale à 35W.m^{-2} . Les concentrations bactériennes dans la phase liquide au cours du traitement ont été évaluées via trois techniques de quantification bactérienne: la technique de culture (conventionnellement utilisée), la technique de la q-PCR (PCR en temps réel) et la technique de la v-q-PCR. Pour chacune des techniques utilisées, un protocole de laboratoire a été mis en œuvre puis validé dans nos conditions particulières de fonctionnement.

Au vue des résultats obtenus, le traitement de photocatalyse induit une réduction des populations bactériennes cibles quelque soit la technique utilisée. Il met en évidence des vitesses de modification significativement différentes. Il est apparu que la décroissance des bactéries dites viables cultivables était nettement plus rapide et de plus grande amplitude que celle de la totalité des bactéries viables. Par ailleurs, nos résultats ont mis l'accent sur le principal mécanisme d'action dans l'inactivation bactérienne par photocatalyse, la lyse de la paroi cellulaire. Ce phénomène a été mis en évidence notamment par des observations au microscope à épifluorescence. Les cinétiques d'inactivation bactérienne obtenues montrent que le processus d'inactivation bactérienne par photocatalyse est progressif. Il passe par une première étape lors de laquelle la cultivabilité des cellules est affectée voir annulée. Ensuite, les attaques radicalaires cumulées entraînent la dégradation de l'intégrité membranaire. Dans une dernière étape, l'ADN, devenant accessible aux radicaux, est dégradé à son tour. Ces profils cinétiques peuvent être observés comme étant le résultat de deux cinétiques d'inactivation. Ainsi, il a été proposé de traiter ces dernières par un modèle cinétique empirique simple. Ce modèle permet de rendre compte de la coexistence de deux populations bactériennes présentant des résistances différentes vis-à-vis du traitement photocatalytique: l'une qualifiée de sensible et l'autre de résistante.

Indépendamment de la technique de mesure utilisée, les fractions obtenues pour chaque population bactérienne démontrent que la population bactérienne résistante au traitement photocatalytique est significativement plus faible que la population bactérienne sensible. En effet, la population bactérienne résistante évaluée par culture et v-qPCR est totalement négligeable et représente moins de 1% et 10% de la population bactérienne globale respectivement. Ce résultat a montré qu'il n'était pas primordial de prendre en compte deux types de populations pour décrire correctement les profils d'inactivation bactérienne évaluée par culture. Ainsi, si la technique de culture semble surestimer l'effet bactéricide de la

photocatalyse, la faible présence de la population bactérienne dite résistante au terme de l'expérimentation a permis de confirmer l'efficacité d'inactivation bactérienne du traitement photocatalytique.

L'hypothèse de l'induction de l'état VBNC de la bactérie *E. coli* remet en question l'utilisation de la culture comme unique moyen d'évaluation de l'effet bactéricide de la photocatalyse. De ce fait, l'utilisation de techniques, telles que les techniques moléculaires, apparaît comme un moyen de caractérisation très complémentaire en vue d'atteindre le nombre total (réel) de cellules viables (cultivables et non cultivables). Ces techniques permettent d'affiner ainsi l'évaluation de l'efficacité bactéricide du traitement photocatalytique, mais plus généralement de tout traitement à finalité bactéricide.

CONCLUSION GENERALE

Le traitement d'effluents contenant des microorganismes persistants en sortie de station d'épuration a été abordé avec comme objectif d'estimer les possibilités d'une opération de désinfection par un procédé d'oxydation avancée, la photocatalyse hétérogène solaire. Ce procédé d'oxydation avancée est essentiellement envisagé comme procédé tertiaire en complément de la filière de traitement classique, par nature insuffisante pour l'élimination des microorganismes persistants. Sur la base de cette ligne directrice, le travail a été structuré en quatre parties distinctes ayant chacune une finalité bien identifiée.

Dans un *premier chapitre* et compte tenu du nombre de paramètres intervenant dans le processus de photocatalyse hétérogène, il était important de définir à partir de la bibliographique le principe de fonctionnement de cette technique, les paramètres dont elle dépend, ses domaines d'application mais aussi les points critiques liés à sa mise en oeuvre. L'utilisation du rayonnement solaire comme source d'irradiation UV, qui permet de s'inscrire parfaitement dans une logique de développement durable, constitue un enjeu réel pour assurer un développement industriel de cette technologie. Cependant l'utilisation directe d'une telle source d'énergie implique des contraintes importantes qu'il est nécessaire de prendre en considération et de maîtriser. Ces contraintes sont liées d'une part à la faible ressource utile en terme de densité de flux (domaine UV ; constituant seulement 5% du rayonnement solaire total) et d'autre part à sa variabilité et discontinuité. L'optimisation de l'utilisation de la ressource lumineuse est ainsi déterminante. De manière identique, il convient de savoir gérer les discontinuités et prévoir leur impact sur les performances du procédé de traitement. Les axes de recherche indispensables au développement de cette technologie sont donc : i) l'optimisation du couple procédé/médias photocatalytique; ii) la mise en place d'un modèle mathématique robuste permettant de prédire le fonctionnement de ce type de procédé. C'est dans ce cadre que s'inscrit la suite de ce travail.

Dans un *deuxième chapitre*, une méthodologie a ainsi été proposée ayant comme finalité de définir les conditions de fonctionnement et les performances d'un procédé de désinfection par voie photocatalytique. Les travaux ont été appliqués sur une bactérie de référence, '*Escherichia coli*', mise en suspension dans un milieu modèle (milieu de *Ringer*). Le suivi de la concentration bactérienne au cours des expérimentations a été effectué par une méthode de

culture, conventionnellement utilisée, la microplaque MUG/*E. coli*. L'acquisition d'un ensemble de données expérimentales suffisamment représentatives a permis une comparaison directe des performances bactéricides de différents catalyseurs à base de TiO_2 . Au-delà de cette comparaison, ces travaux avaient pour objectifs d'évaluer l'affinité de la bactérie cible vis-à-vis des différents médias puis, de définir un modèle mathématique représentant le fonctionnement d'un pilote de désinfection par voie photocatalytique et dans différentes conditions opératoires.

Dans cette étude, trois catalyseurs à base de TiO_2 ont été retenus, à savoir le TiO_2 Degussa P25, le TiO_2 VP Aeroperl P25/20 présentés sous forme de poudre et le média Ahlstrom Grade 1048. La méthodologie suivie a consisté à étudier les propriétés d'adhésion bactéries/matériau en fonction des différentes mises en forme. Pour chaque matériau une courbe d'équilibre d'adhésion a été définie. Ceci a permis de mettre en évidence la réalité du phénomène d'adhésion puis, de quantifier sa participation à la baisse de la concentration bactérienne lors des essais de désinfection. Les cinétiques d'inactivation bactérienne ont été systématiquement déterminées expérimentalement pour les différentes formes de catalyseurs sur une gamme d'irradiations allant de 5 W.m^{-2} à 35 W.m^{-2} . Les résultats obtenus ont convergé vers ceux rapportés dans la littérature dans la mesure où les performances bactéricides des suspensions (Degussa P25 et VP Aeroperl) ont été supérieures (facteur 1.5) à celles du catalyseur supporté. En termes d'efficacité de désinfection, ceci a permis de mettre en avant le rôle déterminant du paramètre surface spécifique dans le cas des catalyseurs en poudre et celui du taux de recouvrement dans le cas du catalyseur supporté.

Les expérimentations photocatalytiques ont été réalisées dans une boucle de laboratoire fonctionnant en mode batch et dans des conditions d'irradiation contrôlées et correspondant approximativement au rayonnement solaire. Ce choix a permis de travailler en parallèle à la définition d'un modèle cinétique et l'identification pour chacun des médias des paramètres cinétiques à priori représentatifs des capacités de désinfection sous rayonnement solaire. Ce modèle implique un couplage entre deux phénomènes de base qui coexistent : le phénomène de transfert de masse (adhésion bactérienne) et la réaction photocatalytique subséquente. Une fois validé, le modèle cinétique établi a permis de mettre en place des simulations de l'évolution bactérienne au cours d'un traitement photocatalytique aussi bien dans la phase liquide que dans la phase en adhésion. Ces simulations ont permis de dissocier les phénomènes qui coexistent et d'évaluer leur contribution relative dans le processus global d'inactivation bactérienne.

Par ailleurs, réaliser des expérimentations en conditions dites réelles (irradiation solaire ; effluent réel) constituait un objectif à part entière de notre travail. La réalisation de telles expériences est en effet la seule manière de se confronter à la réalité du fonctionnement d'un procédé de désinfection solaire en sortie d'une station d'épuration. Ainsi, des expérimentations ont été réalisées sur la bactérie cible dans un pilote solaire de plus grande échelle et fonctionnant en mode batch. L'inactivation bactérienne a été étudiée d'abord, dans le milieu modèle et ensuite dans un effluent réel. Dans le cas d'une opération d'inactivation bactérienne dans un milieu modèle, le transfert du traitement photocatalytique d'une petite échelle vers une échelle plus importante a été opérationnel et a mis en évidence la faisabilité de l'application d'une telle technologie sous des conditions de rayonnement solaire. A contrario, il est apparu que le processus de désinfection dans un effluent réel dépendait étroitement de sa composition complexe. Ainsi la transposition des résultats acquis dans le cas d'un milieu modèle vers un effluent réel est loin d'être triviale et nécessitera une étude à part entière qui constituera une prolongation de ce travail.

Les résultats obtenus dans le système batch sont difficilement transposables à des procédés plus pratiques (fonctionnant en flux continu). Le passage du fonctionnement en mode batch vers le mode continu s'est donc avéré fort pertinent. Ainsi, dans un *troisième chapitre*, on s'est proposé d'étudier l'inactivation de la bactérie *E. coli* dans un procédé de traitement photocatalytique en mode continu et utilisant le catalyseur supporté. Les travaux ont porté initialement sur la conception, la mise en route et la caractérisation d'un pilote original permettant le fonctionnement en régime permanent. Les expérimentations photocatalytiques réalisées dans ce pilote avaient pour vocation d'apporter des informations complémentaires sur les étapes du processus de désinfection (phase d'adhésion, dégradation). Il s'agissait, par ailleurs, de recueillir les cinétiques d'inactivation bactérienne dans des conditions maîtrisées, afin d'évaluer le potentiel de la photocatalyse pour une application de désinfection en flux continu. Ces travaux visaient particulièrement à étudier l'action de la photocatalyse sur l'inactivation bactérienne en régime permanent en fonction de deux paramètres opératoires régissant le processus du traitement : la densité de flux d'irradiation et le temps de séjour moyen dans la boucle de traitement étudiée.

Les résultats de désinfection obtenus ont mis en évidence la capacité de la photolyse ainsi que de la photocatalyse à inactiver la bactérie *E. coli* en régime permanent. Il est ressorti que le procédé de désinfection dans de telles conditions de fonctionnement était fort dépendant de la densité de flux d'irradiation et du débit d'écoulement. Le taux d'abattement maximal (96%) a

été obtenu pour les valeurs de densité d'irradiation et de temps de séjour les plus élevées. Finalement, l'approche suivante s'agissait de valider la possibilité de prédire les cinétiques d'inactivation bactérienne obtenues dans le système ouvert à partir de la loi cinétique définie au préalable dans le système fermé. L'identification des jeux de paramètres cinétiques permettant de représenter au mieux les profils de concentrations bactériennes dans le procédé continu a permis de valider la démarche suivie. Néanmoins, des différences sont apparues pour les coefficients cinétiques entre le régime batch et continu. Ces différences ont été rapportées à la géométrie et à la conduite des expérimentations, mais aussi aux conditions initiales de fonctionnement, en particulier l'état initial de la surface du catalyseur. Elles ont permis de conclure que ce sont les résultats issus du procédé continu qui permettaient d'approcher le mieux la réalité du processus de désinfection.

Pour identifier le degré de dégradation des bactéries, il existe différentes techniques de quantification bactérienne basée sur un ou plusieurs critères de viabilité. Cet état de viabilité peut être associé à la capacité de la bactérie à se multiplier sur un milieu de culture, comme il peut être lié à l'état physique des cellules bactériennes (intègres ou endommagées). Ainsi, une bactérie qui serait indétectable par la méthode de culture ne représente pas nécessairement une bactérie morte. Le choix de la méthode de suivie « de la viabilité de la bactérie » au cours du procédé photocatalytique est donc un facteur clef à considérer. Selon la méthode de quantification, la viabilité des bactéries peut être perçue différemment et les informations apportées donneront des lectures différentes de l'efficacité du traitement appliqué. Ainsi, de manière à compléter les résultats obtenus par la méthode de culture (utilisée tout au long de notre étude) on s'est proposé, dans un ***quatrième et dernier chapitre***, d'évaluer l'efficacité d'inactivation photocatalytique de la bactérie *E. coli* via deux techniques moléculaires complémentaires, la q-PCR et la v-q-PCR. Ces techniques permettent de quantifier l'ADN moléculaires total et l'ADN des bactéries intègres successivement. Le but de cette étude était d'apporter plus de précision sur les effets bactéricides du procédé photocatalytique. Il s'agissait d'apporter des informations sur l'état « réel » des bactéries au cours du traitement photocatalytique. La démarche suivie a consisté à déterminer et comparer les cinétiques d'inactivation bactérienne obtenues par la méthode de culture et les deux techniques moléculaires. Cette démarche a permis de discriminer les bactéries mesurables par la méthode de culture (Viable cultivable, VBC) de la totalité des bactéries viables (bactéries intègres). Elle a permis, par ailleurs, de mettre en avant le principal mécanisme d'inactivation bactérienne par voie photocatalytique, la lyse membranaire.

Les résultats de comparaison obtenus ont montré que la décroissance des bactéries dites viables cultivables était nettement plus rapide et de plus grande amplitude que celle des bactéries viables totales. La technique de culture semblait ainsi surestimer l'efficacité bactéricide du traitement photocatalytique. Il a été démontré en plus que le processus de dégradation par photocatalyse est progressif. Il passait par une première étape, lors de laquelle la cultivabilité des cellules est affectée ensuite, par une deuxième étape, où les attaques radicalaires entraînaient le phénomène de la lyse cellulaire et enfin une dernière étape de destruction des molécules d'ADN. Ainsi, dans une dernière démarche, on s'est proposé de traiter les profils cinétiques obtenus par un modèle cinétique empirique. Ce modèle a permis de rendre compte de la coexistence de deux populations bactériennes présentant des résistances différentes vis-à-vis du traitement photocatalytique. Il a permis également d'estimer la part de chaque population puis d'évaluer l'efficacité de son traitement photocatalytique.

Les résultats obtenus ont montré que la fraction de la population bactérienne résistante, évaluée en fin d'expérimentation par culture ($\approx 1\%$) et par v-q-PCR ($\approx 10\%$) est négligeable. La faible présence de la population bactérienne résistante au terme du traitement a permis de valider ainsi l'efficacité bactéricide de la photocatalyse.

Les résultats présentés dans ce mémoire montrent la faisabilité du procédé de désinfection par voie photocatalytique. Elles ont permis, à partir de résultats expérimentaux, d'établir un modèle cinétique capable de décrire le fonctionnement du processus dans différentes conditions d'irradiation. Néanmoins, de nombreuses *perspectives* peuvent être envisagées pour compléter cette étude. L'identification des paramètres cinétiques ayant permis la mise en place du modèle a été réalisée à partir de cinétique d'inactivation bactérienne dans un milieu modèle (milieu de Ringer). L'utilisation de la loi cinétique établie pour une application à plus grande échelle nécessiterait une étude supplémentaire permettant d'élargir sa validité à des *effluents de composition plus complexe*. Par ailleurs, les résultats prometteurs obtenus pour le catalyseur Ahlstrom ont confirmé l'intérêt et les nombreuses perspectives de travail à effectuer sur le développement de médias catalytiques. L'optimisation du support afin d'améliorer la capacité d'absorption du rayonnement (*support 3D*) ainsi que l'amélioration des propriétés catalytiques du photo-catalyseur pour de meilleures performances (*élargissement de la bande d'absorption au domaine du visible*) sont des pistes sérieusement à envisager.

Une question importante se pose également autour de la capacité des bactéries dégradées à se régénérer une fois qu'elles se retrouvent de nouveau dans des conditions environnementales favorables. En effet, il apparaît que les bactéries, comme tout être vivant, mettent en œuvre des mécanismes de réparation cellulaires instantanés au cours du traitement photocatalytique. Ainsi, elles sont plus ou moins capables (en fonction de leur degré de dégradation) de se régénérer et de retrouver leur activité métabolique initiale. Des expérimentations complémentaires seraient ainsi envisageables afin de s'assurer de l'efficacité à terme du procédé photocatalytique. Il s'agit d'étudier *l'évolution bactérienne à l'étape de post-traitement*. Enfin, l'ensemble des expérimentations et modélisation a été réalisé avec une bactérie de référence, *E. coli*. Il conviendra donc d'étendre et de conforter ces résultats à minima et de manière systématique aux trois autres types d'indicateurs d'efficacité de traitement présents dans les normes actuelles, *les entérocoques fécaux, les spores de bactéries anaérobies sulfito-réductrices et les Phages ARN F-spécifiques*.

PUBLICATIONS

Kacem M., Plantard G., Wery N., Goetz V., Kinetics and efficiency displayed by supported and suspended TiO₂ catalysts applied to the disinfection of *Escherichia coli*. Ch. J. Catal. 35 (2014) 1571–1577.

Kacem M., Plantard G., Wery N., Goetz V., Modeling heterogeneous photocatalytic inactivation of *E. coli* using suspended and immobilized TiO₂ reactors. (Acceptée dans AIChE le 06/04/2015).

Kacem M., Bru-Adan V., Goetz V., Steyer J.P., Plantard G. and Wéry N., Inactivation of *Escherichia coli* by TiO₂ mediated photocatalysis evaluated by culture method and viability q-PCR. (Soumise à Journal of photobiology and photochemistry sciences 2015).

COMMUNICATIONS

Kacem M., Plantard G., Wery N., Goetz V., Wastewater disinfection by heterogenous photocatalysis: Role of the media used: 3rd European Conference on environmental applications of advanced oxidation processes 2013, 27-30 October 2013 Almeria, Spain (Poster).

Kacem M., Plantard G., Wery N., Goetz V., Modeling aqueous heterogeneous photocatalytic disinfection of *Escherichia coli* using suspended and fixed titanium dioxide based reactor. GPE – 4th International Congress on Green Process Engineering 7-10 April 2014 – Seville, Spain (Orale).

Goetz V., Kacem M., Wery N. and Plantard G., Gram-negative *E. coli* inactivation with suspended or supported TiO₂: model coupling mass transfer and degradation, indoor and solar outdoor experiments. Third international conference on Advanced Oxidation Process AOP-2014, 25-28 September 2014, Menar, Inde.

Kacem M., Plantard G., Wery N., Goetz V., *E. coli* disinfection by heterogenous photocatalysis. 8th Sollab Doctoral Colloquium, 25-26 juin 2012, Almeria-Spain. (Orale).

Kacem M., Plantard G., Wery N., Goetz V., Modélisation de la désinfection d'*E. coli* par photocatalyse hétérogène solaire, Journée Nationale de l'Energie Solaire (JNES), 8-10 Juillet 2014, Perpignan. (Orale).

Kacem M., Plantard G., Wery N., Goetz V., Désinfection par photocatalyse hétérogène : Un catalyseur supporté comme alternative aux catalyseurs suspendus, Journées Junior FédEsol, 2-3 Décembre 2013, Dourdan-France (Orale).

Kacem M., Plantard G., Wery N., Goetz V., Modélisation de l'inactivation d'*Escherichia coli* par photocatalyse hétérogène, Congrès pluridisciplinaire des doctorants de l'UPVD, 15-16 Mai 2013, Perpignan-France (Poster)

Kacem M., Plantard G., Wery N., Goetz V., Désinfection des eaux usées par voie photocatalytique, Congrès pluridisciplinaire des doctorants de l'UPVD, 7-8 Juin 2012, Perpignan-France (Orale).

Kacem M., Plantard G., Wery N., Goetz V., La photocatalyse hétérogène comme alternative aux traitements chimiques des eaux usées, 13^{ème} Journées des Doctorants, 12-14 Mars 2012, Odeillo-France (Orale).

Kacem M., Plantard G., Wery N., Goetz V., Rôle du photocatalyseur utilisé dans l'inactivation d'*E. coli* par photocatalyse hétérogène, 14^{ème} Journées des Doctorants, 8-10 Avril 2013, Odeillo, France (Orale).

Kacem M., Plantard G., Wery N., Goetz V., Mécanismes de l'inactivation d'*E. coli* par voie photocatalytique, 15^{ème} Journées des Doctorants, 31 Mars - 1 Avril 2014, Odeillo- France (Orale).

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Acra A., Karahagopian Y., Raffoul Z., Dajani R., 1980. Disinfection of oral rehydration solutions by sunlight. *The Lancet.*, 316, 1257-1258.

Acra A., Raffoul Z., Karahagopian Y., 1984. Solar disinfection of drinking water and oral rehydration solutions: guidelines for household application in developing countries, Amman: UNICEF, 1-46.

Agrios A., Pichat P., 2005. State of the art and perspectives on materials and applications of photocatalysis over TiO_2 . *J. Appl. Electrochem.*, 35, 655-663.

Agustina T.E., Ang H.M., Vareek V.K., 2005. A review of synergistic effect of photocatalysis and ozonation on wastewater treatment. *J. Photochem. Photobiol. C.*, 6, 264-273.

Asano T., 1998. Wastewater reclamation and reuse. Editions Technomic. Lancaster., 1528p.

Asano T., Burton F.L., Leverenz H.L., Tsuchihashi R., Tchobanoglous G., 2007. Water reuse. Issues, technologies, and applications, New York, Mc Graw-Hill, 1570p.

Assabane A., Ichou Y.A., Tahiri H., Guillard C., Hermann J.M., 2000. Photocatalytic degradation of polycarboxylic benzoic acids in UV-irradiated aqueous suspensions of titania. Identification of intermediates and reaction pathway of the photo-mineralization of trimellitic acid (1,2,4-benzene tricarboxylic acid). *Appl. Catal. B*, 24, 71-87.

Augustynski J., 1993. The role of the surface intermediates in the photoelectrochemical behavior of anatase and rutile titanium dioxide, *Electrochim. Acta.*, 38, 43-46.

B

Barka N., Assabane A., Nounah A., Aït Ichou Y., 2008. Photocatalytic degradation of indigo carmine in aqueous solution by TiO_2 -coated non-woven fibres, *J. Hazard. Mater.*, 152, 2054-1059.

Baron J., Joret J.C., Lesavre J., Perrot J.Y., 1995. Désinfection par ultraviolets des poliovirus et des bactériophages FRNA spécifiques. *TSM.*, 10, 931-936.

Baumont, S., 2004. Réutilisation des eaux usées épurées : risques et faisabilité en Ile de France. Rapport de stage, ENSAT (Toulouse).

Bekbolet M., 1997. Photocatalytic bactericidal activity of TiO_2 in aqueous suspension of *E. coli*. *Water Sci. Technol.*, 35, 95-100.

Bekbölet M., Araz C.V., 1996. Inactivation of *Escherichia coli* by photocatalytic oxidation. *Chemosphere.*, 32, 959-965.

Bekbölet M., Balcioglu I., 1996. Photocatalytic degradation kinetics of humic acid in aqueous TiO₂ dispersions: The influence of hydrogen peroxide and bicarbonate ion. *Water Sci. Technol.*, 34, 73-80.

Benabbou A.K., Derriche Z., Felix C., Lejeune P., Guillard C., 2007. Photocatalytic inactivation of *Escherichia coli*: Effect of concentration of TiO₂ and microorganism, nature, and intensity of UV irradiation, *Appl. Catal. B*, 76, 257-263.

Berg G., Dahling R., Brown G.A., Berman D., 1978. Validity of faecal coliforms, total coliforms and faecal streptococci as indicators of viruses in chlorinated primary sewage effluents. *Appl. Environ. Microbiol.*, 36, 880-884.

Berney M., Weilenmann H.U, Simonetti A., Egli T., 2006. Efficacy of solar disinfection of *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Salmonella Typhimurium* and *Vibrio cholerae*. *J. Appl. Microbiol.*, 101, 828-836.

Berney M., Weilenmann H.U., Egli T., 2006. Gene expression of *Escherichia coli* in continuous culture during adaptation to artificial sunlight. *Appl. Environ. Microbiol.*, 8, 1635-1647.

Betelli L., 2013. Développement et évaluation d'une méthode fondée sur la PCR temps réel pour la caractérisation des bioaérosols : application au groupe des *actinomycètes*. Thèse de doctorat d'université, Bourgogne, Université de Bourgogne, 255p.

Beveridge T.J., Graham L.L., 1991. Surface layers of bacteria. *Microbiol. Rev.*, 55, 684-705.

Bjergbaek L.A., Roslev P., 2005. Formation of nonculturable *Escherichia coli* in drinking water. *Appl. Environ. Microbiol.*, 99, 1090-1098.

Blake D.M., 2001. Bibliography of work on the heterogeneous photocatalytic removal of hazardous compounds from water and air, Golden, National Renewable Energy Laboratory, Colorado, USA.

Blanco J., 2003. Head of Solar Chemistry, Malato S. Researcher in the Solar Chemistry Area, Solar detoxification, Plataforma Solar de Almeria, Spain.

Blanco-Gálvez J., Fernández-Ibáñez P., Malato-Rodríguez S., 2007. Solar photocatalytic detoxification and disinfection of water: recent overview. *J. Sol. Energy Eng.*, 129, 4-15.

Block S.S., Seng V.P., Goswami D.W., 1997. Chemically enhanced sunlight for killing bacteria. *J. Sol. Energy Eng.*, 119, 85-91.

Bond T., Goslan E.H., Parsons S.A., Jefferson B., 2011. Treatment of disinfection by-product precursors. *Environ. Technol.*, 32, 1-25.

Bosshard F., Riedel K., Schneider T., Geiser C., Bucheli M., Egli T., 2010. Protein oxidation and aggregation in UVA irradiated *Escherichia coli* cells as signs of accelerated cellular senescence. *Environ. Microbiol.*, 12, 2931-2945.

Boutin C., Héduit A., Helmer J.M, 2009. Technologies d'épuration en vue d'une réutilisation des eaux usées traitées (REUT) Rapport final, Convention de partenariat ONEMA-Cemagref : domaine écotechnologies et pollutions, 100p.

Bouzaza A., Laplanche A., 2002. Photocatalytic degradation of toluene in the gas phase: comparative study of some TiO₂ supports, *J. Photochem. Photobiol. A*, 150, 207-212.

Buxton GU., Greenstock CL., Helman WP., Ross AB., 1988. Critical review of rate constant for reactions of hydrated electrons, hydrogen atoms and hydroxyl radicals in aqueous solution. *J. Phys. Ref. Data.*, 17, 573-759.

Byrne J.A., Fernandez-Ibañez P.A., Dunlop P.S.M., Alrousan D.M.A., Hamilton J.W.J., 2011. Photocatalytic enhancement for solar disinfection of water: A review. *Int. J. Photoenergy*, 2011, 1-12.

C

Carre G., Benhamida D., Peluso J., Muller C.D., Lett M.C., Gies J.P., Keller V., Keller N.A., 2013. On the use of capillary cytometry for assessing the bactericidal effect of TiO₂. Identification and involvement of reactive oxygen species. *Photochem. Photobiol. Sci.*, 12, 610–620.

Cathy M., Robertson Jeanette M.C., Bahnemann Detlef W., Robertson Peter K.J., 2007. The application of TiO₂ photocatalysis for disinfection of water contaminated with pathogenic microorganisms: a review. *Res. Chem. Intermed.*, 33, 359-375.

Cheng Y.W., Chan R.C., Wong P.K., 2007. Disinfection of *Legionella pneumophila* by photocatalytic oxidation. *Water Res.*, 41, 842-852.

Chick H., 1908. An investigation of the laws of disinfection. *J. Hyg.*, 8, 92–158.

Cho M., Chung H., Wonyong C., Yoon J., 2004. Linear correlation between inactivation of *E. coli* and OH radical concentration in TiO₂ photocatalytic disinfection. *Water Res.*, 38, 1069-1077.

Chong M.N., Jin B.C., Chow W.K., Saint C., 2010. Recent developments in photocatalytic water treatment technology: A review. *Water Res.*, 44, 2997-3027.

Chung H., Jaykus L.A., Sobsey M.D., 1996. Detection of human enteric viruses in oysters by in vivo and in vitro amplification of nucleic acids. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62, 3772-3778.

Cohen H.J., Mechanda S.M., Lin W., 1996. PCR amplification of the *fim A* gene sequence of *Salmonella typhimurium*, a specific method for the detection of *Salmonella spp.* *Appl. Environ. Microbiol.*, 62, 4303-4308.

Colwell R.R., Brayton P., Herrington B., Tall B., Huq A., Levine M.M., 1996. Viable but nonculturable *Vibrio cholera* O1 revert to a cultivable state in the human intestine. *World. J. Microbiol. Biotech.*, 12, 28–31.

Cornish B.J.P.A., Lawton L.A., Robertson P.K.J. 2000. Chemical degradation methods for wastes and pollutants. *Appl. Catal. B*, 25, 59-67.

Correia F., 2011. Etude expérimentale et modélisation de réacteurs photochimiques solaires : performances de medias photocatalytiques, Thèse de doctorat d'université, Université de Perpignan Via Domitia, Perpignan, 203p.

Correia F., Goetz V., Plantard G., Sacco D., 2011. A model for solar photocatalytic mineralization. *Sol. Energy Eng.*, 133, 1-5.

D

Dalrymple O.K., 2011. Mechanistic modeling of photocatalytic water disinfection, these de doctorat d'université, Université de South Florida, Florida, 220p.

Dalrymple O.K., Stefanakos E., Trotz M.A., Goswami D.Y., 2010. A review of the mechanisms and modeling of photocatalytic disinfection. *Appl. Catal. B*, 98, 27–38.

Dauchet, 2012. Analyse radiative des photobioréacteurs, Thèse de doctorat d'université, Université Blaise Pascal- Clermont 2, Clermont Ferrand, 393p.

Delgado-Viscogliosi P., Solignac L., Delattre J.M., 2009. Viability PCR, a culture-independent method for rapid and selective quantification of viable *Legionella pneumophila* cells in environmental water samples. *Appl. Environ. Microbiol.*, 75, 3502–3512.

Dizer H., Bartocha W., Bartel H., Seidel K., Lopez-Pila J.M., Grohmann A., 1993. Use of ultraviolet radiation for inactivation of bacteria and coliphages in pretreated wastewater, *Water Res.*, 27, 397-403.

Dupontreue D., 1989. Optimisation des traitements de désinfection des stations d'épuration du littoral Artois-Picardie - 1. Compte-rendu de l'étude, Agence de l'Eau Artois-Picardie, Mémoire de 3ème année, Ecole nationale des ingénieurs des Travaux Ruraux et des techniques sanitaires, 86pp.

E

Ede S., Hafner L., Dunlop P., Byrne J., Will G., 2012. Photocatalytic disinfection of bacterial pollutants using suspended and immobilized TiO₂ powders. *Photochem. photobiol.*, 88, 728-735.

Elatmani K., 2013 . Media photocatalytiques pour applications solaires : photominéralisation de pesticides le pyrimethanil. Thèse de doctorat d'université, Université de Perpignan, Perpignan, 160p.

Elatmani K., Plantard G., Sacco D., Aitichou I., Goetz V., 2013. Innovative photocatalytic media optimized for solar-powered remediation: application to pyrimethanil. *Mater. Sci. Semicond. Process.*, 16, 1117-1124.

Emeline A.V., Ryabchuk V., Serpone N., 2000. Factors affecting the efficiency of a photocatalysed process in aqueous metal-oxide dispersions. *J. Photochem. Photobiol. A.*, 133, 89-97.

F

Faby J.A., 1997. L'utilisation des eaux usées épurées en irrigation. Document technique, FNDAE, 11, 80 pp.

Farooq S., Engelbrecht R.S., Chian E.S.K., 1977. Influence of temperature and U.V. light on disinfection with ozone. *Water Res.*, 11, 737-741.

Fernandez-Ibáñez P., Blanco J., Sichel C., Malato S., 2005. Water disinfection by solar photocatalysis using compound parabolic collectors. *Catal. Today.*, 101, 345-352.

Frank S.N., Bard A.J., 1977. Heterogeneous photocatalytic oxidation of cyanide and sulfite in aqueous solutions at semiconductor powders. *J. Phys. Chem.*, 81, 1484-1488.

Friedmann D., Mendive C., Bahnemann D., 2010. TiO₂ for water treatment: Parameters affecting the kinetics and mechanisms of photocatalysis. *Appl. Catal. B.*, 99, 398-406.

Furman M., Corbel S., Le Gall H., Zahraa O., Bouchy M., 2007. Influence of a geometry of a monolithic support on the efficiency of photocatalyst for air cleaning. *Chem. Eng. Sci.*, 62, 5312-5316.

G

Geeraerd A.H., Herremans C.H., Van Impe J.F., 2000. Structural model requirements to describe microbial inactivation during a mildheat treatment. *Int. J. Food Microbiol.* 59, 185-209.

Gelover S., Gómez L.A., Reyes K., Teresa Leal M., 2006. A practical demonstration of water disinfection using TiO₂ films and sunlight, *Water Res.*, 40, 3274-3280.

Gerrischer H., Heller A., 1992. Photocatalytic oxidation of organic molecules at TiO₂ particules by sunlight in aerated water, *J. Electrochem. Soc.*, 139, 113-118.

Gill L. W., McLoughlin O. A., 2007. Solar disinfection kinetic design parameters for continuous flow reactors. *J. Sol. Energy Eng.*, 129, 111-118.

Gill L.W., Price C., 2010. Preliminary observations of a continuous flow solar disinfection system for a rural community in Kenya. *Energy*, 35 4607–4611.

Glaze W. H., Kang J.W., Chapin D.H. 1987. The chemistry of water treatment processes involving ozone, hydrogen peroxide and UV-radiation. *Ozone: Sci. Eng.*, 9, 335–352.

Goetz V., Cambon J.P., Sacco D., Plantard G., 2009. Modeling for heterogeneous photocatalytic degradation of organic compounds with immobilized TiO₂, *Chem. Eng. Proc.*, 48, 532-537.

Goswami D.Y., Trivedi D. M., Block S.S., 1997. Photocatalytic disinfection of indoor air. *J. Sol. Energy Eng.*, 119, 92 – 96.

Grabowska E., Zaleska A., Sobczak J.W., Gazda M., Hupka J., 2009. Boron-doped TiO₂: Characteristics and photoactivity under visible light. *Procedia Chem.*, 1, 1553-1559.

Guillot A., Stoeckli F., 2002. Reference isotherm for high pressure adsorption of CO₂ by carbon at 273 K, *Carbon*, 40, 1295-1308.

Gumy D., Morais C., Bowen P., Pulgarin C., Giraldo S., Hajdu R., Kiwi J., 2006. Catalytic activity of commercial of TiO₂ powders for the abatement of the bacteria (*E. coli*) under solar simulated light: influence of the isoelectric point. *Appl. Catal. B*, 63, 76-84.

Gumy D., Rincon A.G., Hajdu R., Pulgarin C., 2006. Solar photocatalysis for detoxification and disinfection of water: different types of suspended and fixed TiO₂ catalysts study, *Sol. Energ.*, 80, 1376-138.

Guo L., Jury W.A., Wagenet R.J., Flury M., 2000. Dependence of pesticide degradation on sorption: non equilibrium model and application to soil reactors. *J. Contam. Hydrol.*, 43, 45–62.

H

Harwood V.J., Levine A.D., Scott T.M., Chivukula V., Lukasik J., Farrah S.R., Rose J.B., 2005. Validity of the Indicator organism paradigm for pathogen reduction in reclaimed water and public health protection. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71, 3163-3170.

Havelaar A.H., Nieuwstad T.H.J., 1985, Bacteriophages and fecal bacteria as indicators of chlorination efficiency of biologically treated wastewater, *J. WPCF*, 57, 1084- 1088.

Heijnen L., Medema G., 2006. Quantitative detection of *E. coli*, *E. coli* O157 and other shiga toxin producing *E. coli* in water samples using a culture method combined with real-time PCR. *J. water health*, 4, 487-498.

Hellweger F.L., Bucci V., Litman M.R., Gu A.Z., Onnis-Hayden A., 2009. Biphasic decay kinetics of fecal bacteria in surface water: not a density effect. *ASCE J. Environ. Eng.* 135, 372-376.

Herrera Melian H., Dona Rodriguez J.M., Viera Suarez A., Tello Rendon E.T., Valdes do Campo C., Arana J., Perez Pena J., 2000. The photocatalytic disinfection of urban waste waters. *Chemosphere*, 41, 323-327.

Herrmann J.M., 1995. Heterogeneous photocatalysis: an emerging discipline involving multiphase system, *Catal. today*, 24, 157-164.

Herrmann J.M., 1999. Heterogeneous photocatalysis: fundamentals and applications to the removal of various types of aqueous pollutants, *Catal. Today*, 53, 115-129.

Herrmann J.M., Guillard C., Pichat P., 1993. Heterogeneous photocatalysis: an emerging technology for water treatment. *Catal. Today*, 17, 7-20.

Hilali S., Application de la photocatalyse pour la dégradation des polluants chimiques et bactériologiques dans l'eau en utilisant des catalyseurs irradiés par des photons de lumière naturelle ou artificielle (UVA/UVB), Thèse de doctorat d'université, Université de Lyon, Lyon, 2012, 220p.

Hoffmann M.R., Martin S.T., Choi W., Bahnemann D.W., 1995. Environmental applications of Semiconductor Photocatalysis, *Chem. Rev.*, 95, 69-96.

Horman A., Rimhanen-Finne R., Maunula L., Von Bonsdorff C., Torvela N., Heikinheimo A., Hanninen M., 2004. *Campylobacter spp.*, *Giardia spp.*, *Cryptosporidium spp.*, noroviruses, and indicator organisms in surface water in southwestern Finland. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70, 87-95.

Huang N., Xiao Z., Huang D., Yuan C., 1998. Photochemical disinfection of *Escherichia coli* with a TiO₂ colloid solution and a self-assembled TiO₂ thin film. *Supramol. Sci.*, 5, 559-564.

Huang W.J., Fang G.C., Wang C.C., 2005. The determination and fate of disinfection byproducts from ozonation of polluted raw water, *Sci. Total Environ.*, 345, 261-272.

Huang Z., Maness P., Blake D.M., Wolfrum E. J., Smolinski S.L., Jacoby W.A., 2000. Bactericidal mode of titanium dioxide photocatalysis. *J. Photochem. Photobiol. A.*, 130, 163-170.

I

Ibanez J., Litter M., Pizarro R., 2003. Photocatalytic bactericidal effect of TiO₂ on *Enterobacter cloacae*: Comparative study with other Gram (-) bacteria. *J. Photochem. Photobiol. A*, 157, 81-85.

ISO 6222, 1999, Qualité de l'eau -- Dénombrement des micro-organismes revivifiants -- Comptage des colonies par ensemencement dans un milieu de culture nutritif gélosé.

ISO 6461-1, 1986, Qualité de l'eau -- Recherche et dénombrement des spores de micro-organismes anaérobies sulfite-réducteurs (clostridia), Partie 1: Méthode par enrichissement dans un milieu liquide.

J

Jacoby W., Maness P.C., Wolfrum E., Blake D., Fennell J.A., 1998. Mineralization of bacterial cell mass on a photocatalytic surface in air. *Environ. Sci. Technol.*, 32, 2650-2653.

Janin T., 2012. Traitement d'effluents phytosanitaires par héliocatalyse – Hybridation sorption/photocatalyse, Thèse de doctorat d'université, Université de Perpignan Via Domitia, Perpignan, 223p.

Jensen L.B., Ramos J.L., Kaneva Z., Molin S., 1993. A substrate-dependent biological containment system for *Pseudomonas putida* based on the *Escherichia coli* *gef* gene. *Appl. Environ. Microbiol.* 59, 3713-3717.

K

Kacem M., Plantard G., Wery N., Goetz V., 2014. Kinetics and efficiency displayed by supported and suspended TiO₂ catalysts applied to the disinfection of *Escherichia coli*. *Ch. J. Catal.* 35, 1571-1577.

Kalogirou S., 1997. Design, construction, performance evaluation and economic analysis of an integrated collector storage system, *Renew. Energ.* 12, 179-192.

Kaparaju P.L.N., Steyer J.P., Krogfelt K.A., Angelidaki I., 2009. Screening *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, and *Clostridium perfringens* as indicator organisms in evaluating pathogen-reducing capacity in biogas plants. *Microbial Ecol.* 58, 221-230.

Kikuchi Y., Sunada K., Iyoda T., Hashimoto K., 1997. Photocatalytic bactericidal effect of TiO₂ thin films: dynamic view of the active oxygen species responsible for the effect. *J. Photochem. Photobiol. A*, 106, 51-56.

Kim S., Choi W., 2002. Kinetics and Mechanisms of Photocatalytic Degradation of (CH₃)_n NH_{4-n}⁺ (0 ≤ n ≤ 4) in TiO₂ Suspension: The Role of OH Radicals, *Environ. Sci. Technol.*, 36, 2019-2025.

Kim S., Kwak S.Y., 2009. Photocatalytic inactivation of *E. coli* with mesoporous TiO₂ coated film using the film adhesion method. *Environ. Sci. Technol.*, 43, 148-151.

Kim S.H., Kwak S.Y., Sohn B.H., Park T.H., 2003. Design of TiO₂ nanoparticle self-assembled aromatic polyamide thin-film composite (TFC) membrane as an approach to solve biofouling problem. *J. Memb. Sci.*, 211, 157-165.

Kouame A.N., Masson R., Robert D., Keller N., Keller V., 2013. SiC foams as a promising structured photocatalytic support for water and air detoxification, *Catal. Today* 209, 13– 20.

Kouame Y., 1990. CSTR Microbial inactivation by free and combined chlorine, Illinois Institute of Technology, p346.

Kuhn KP, Chaberny IF, Massholder K, Stickler M, Benz VW, Sonntag HG, Erdinger L., 2003. Disinfection of surfaces by photocatalytic oxidation with titanium dioxide and UVA light. *Chemosphere*, 53, 71-77.

L

Lambert R.J.W., Johnston M.D., 2001. The effect of interfering substances on the disinfection process: a mathematical model. *J. Appl. Microbiol.*, 91, 548-555.

Le Roux H., Glasser L., 1997. Transferable potentials for the Ti-O system, *J. Mater. Chem.* 7, 843-851.

Lee H., Choi W., 2002. Photocatalytic oxidation of arsenite in TiO₂ suspension: Kinetics and mechanisms. *Environ. Sci. Technol.*, 36, 3872–3878.

Legnani P.P., Leoni E., Baraldi M., Pinelli G. and Bisbini P., 1996, Evaluation of disinfection treatment systems for municipal wastewater reclamation and reuse, *Zentralbl. Hyg. Umweltmed.*, 198, 552-566.

Legrini O., Oliveros E., Braun A.M., 1993. Photochemical processes for water treatment, *Chem. Rev.*, 93, 671-698.

Lhomme L, 2006. Dégradation de produits phytosanitaire sur support: application aux effluents agricoles, Thèse de doctorat d'université, Ecole National Supérieur de Chimie de Rennes, Rennes, 170p.

Li Puma G., Bono A., Krishnaiah D., Collin J.G., 2008. Preparation of titanium dioxide photocatalyst loaded onto activated carbon support using chemical vapor deposition: A review paper, *J. Hazard. Mater.*, 157, 209-219.

Li Puma G., Yue P.L., 1998. A laminar falling film slurry photocatalytic reactor. Part 1—model development, *Chem. Eng. Sci.*, 53, 2993–3006.

Liu H., Yang T.C., 2003. Photocatalytic inactivation of *Escherichia coli* and *Lactobacillus helveticus* by ZnO and TiO₂ activated with ultraviolet light. *Proc. Biochem.*, 39, 475-481.

Liu Y., Huang J., Ding S., Liu Y., Yuan J., Li H., 2013. Deposition, characterization, and enhanced adherence of *Escherichia coli* bacteria on flame-sprayed photocatalytic titania-hydroxyapatite coatings. *J. Therm. Spray Technol.*, 22, 1053-1062.

Lonnen J., Kilvington S., Kehoe S. C., Al-Touati F., McGuigan K.G., 2005. Solar and photocatalytic disinfection of protozoan, fungal and bacterial microbes in drinking water. *Water Res.*, 39, 877-883.

Lu S.Y., Wu D., Wang Q.L., Yan J., Buekens A.G., Cen K.F., 2011. Photocatalytic decomposition on nano-TiO₂: destruction of chloroaromatic compounds. *Chemosphere*, 82, 1215-1224.

Lucena F., Duran A.E., Moron A.E.C., Campos C., Gantzer C., Skrabber S., Jofre J., 2004. Reduction of bacterial indicators and bacteriophages infecting faecal bacteria in primary and secondary wastewater treatments. *J. Appl. Microbiol.*, 97, 1069- 1076.

M

Mahdi Ahmed M., 2014. Elimination de substances pharmaceutiques d'effluents urbains par un procédé d'oxydation avancée basé sur le radical sulfate, thèse de Doctorat d'université, Université de Montpellier, Montpellier.

Malato S., 1999. Solar photocatalytic decomposition of pentachlorophenol dissolved in water. Editorial CIEMAT, Madrid, Spain.

Malato S., Blanco J., Alarcón D.C., Maldonado M.I., Fernández-Ibáñez P., Gernjak W., 2007. Photocatalytic decontamination and disinfection of water with solar collectors. *Catal. Today*, 122, 137-149.

Malato S., Blanco J., Vidal A., Richter C., 2002. Photocatalysis with solar energy at a pilot-plant scale: an overview, *Appl. Catal. B*, 37, 1-15.

Malato S., Fernandez-Ibanez P., Maldonado M.I., Blanco J., Gernjak W., 2009. Decontamination and disinfection of water by solar photocatalysis: Recent overview and trends. *Catal. Today*, 147, 1-59.

Mamane H., Shemer H., Linden K.G., 2007. Inactivation of *E. coli*, *B. subtilis* spores, and MS2, T4, and T7 phage using UV/H₂O₂ advanced oxidation, *J. Hazard. Mater.*, 146, 479-486.

Mandra V., Lazarova V., Dumoutier N., Audic J.M., 1996. Etude comparative de la désinfection des eaux résiduaires urbaines par l'acide peracétique, l'irradiation U.V. et l'ozone, Actes des "Journées Information Eaux" - Poitiers - 18-20/09/1996, Conférence n°61, 1-12.

Maness P.C., Smolinski S., Blake D.M., Huang Z., Wolfrum E.J., Jacoby W.A., 1999. A bactericidal activity of photocatalytic TiO₂ reaction: toward an understanding of its killing mechanism. *Appl. Environ. Microbiol.*, 65, 4094-4098.

Martin Ruel S., Choubert J.M., Esperanza M. Miegé C., Madriqal P.N., Budzinski H., Le Menach K., Lazarova V., Coquery M., 2011. On-site evaluation of the removal of 100 micro-pollutants through advanced wastewater treatment processes for reuse applications. *Water Sc. and Technol.*, 63, 2486-2497.

Marugan J., Van Grieken R., Sordo C., Cruz C., 2008. Kinetics of photocatalytic disinfection of *Escherichia coli* suspensions. *Appl. Catal. B*, 82, 27-36.

Matsunaga T., Tomoda R., Nakajima T., Nakamura N., Komine T., 1988. Continuous-sterilization system that uses photoconductor powders. *J. Appl. Environ. Microbiol.*, 54, 1330-1333.

Matsunaga T., Tomoda R., Nakajima T., Wake H., 1985. Photoelectrochemical sterilization of microbial cells by semiconductor powders. *FEMS Microbiol. Lett.*, 29, 211-214.

Mayer C.L., Palmer C.J., 1996. Evaluation of PCR, nested PCR, and fluorescent antibodies for detection of *Giardia* and *Cryptosporidium* species in wastewater. *J. Appl. Environ. Microbiol.*, 62, 2081-2085.

Mbonimpa E.G., Vadheim B., Blatchley E.R., 2012. Continuous-flow solar UVB disinfection reactor for drinking water. *Water Res.*, 46, 2344-2354.

McClellan J.N., 2000. Modeling chlorine decay and chlorination by-product formation in water treatment and distribution, University of Massachusetts Amherst.

McCullagh C., Robertson J.M.C, Bahnemann D.W., Robertson P.K.J., 2007. The application of TiO₂ photocatalysis for disinfection of water contaminated with pathogenic micro-organisms: a review. *Res. Chem. Intermed.*, 33, 359-375.

Mendez-Hermida F., Ares-Mazas E., McGuigan K.G., Boyle M., Sichel C., Fernandez-Ibanez P., 2007. Disinfection of drinking water contaminated with *Cryptosporidium parvum* oocysts

under natural sunlight and using the photocatalyst TiO₂. *J. Photochem. Photobiol. B*, 88, 105-111.

Mills A., Le Hunte S. 1997. An overview of semiconductor photocatalysis, *J. Photochem. Photobiol. A*, 108, 1-35.

Minero C., 1999. Kinetic analysis of photoinduced reactions at the water semiconductor interface, *Catal. Today*, 54, 205-216.

Minero V., Vione D., 2006. A quantitative evaluation of the photocatalytic performance of TiO₂ slurry, *Appl. Catal. B*, 67, 257-269.

Modestov A.D., Lev O., 1991. Photocatalytic oxidation of 2,4 dichlorophenoxyacetic acid with molecules in aqueous TiO₂ suspensions, *Environ. Sci. Technol.*, 25, 494-500.

Moncayo-Lasso A., Torres-Palma R.A., Kiwi J., Benítez N., Pulgarin C., 2008. Bacterial inactivation and organic oxidation via immobilized photo-Fenton reagent on structured silica surfaces, *Appl. Catal. B*, 84, 577-583.

Moncayo-Lasso, Sanabria J., Pulgarin C., Benítez N., 2009. Simultaneous *E. coli* inactivation and NOM degradation in river water via photo-Fenton process at natural pH in solar CPC reactor. A new way for enhancing solar disinfection of natural water, *Chemosphere*, 77, 296-300.

Murakami Y., Kenji E., Nosaka A.Y., Nosaka Y., 2006. Direct detection of OH radicals diffused to the gas phase from the UV-irradiated photocatalytic TiO₂ surfaces by means of laser-induced fluorescence spectroscopy. *J. Phy.Chem. B*, 110, 16808-16811.

N

NF EN ISO 9308-3, 1999. Qualité de l'eau. Recherche et dénombrement des *Escherichia coli* et des bactéries coliformes dans les eaux.

Nocker A., Camper Anne K., 2006. Selective removal of DNA from dead cells of mixed bacterial communities by use of Ethidium Monoazide. *J. Appl. Environ. Microbiol.*, 72, 1997-2004.

Nocker, A., Cheung C.Y., Camper Anne, K., 2006. Comparison of propidium monoazide with ethidium monoazide for differentiation of live vs. dead bacteria by selective removal of DNA from dead cells. *J. Microbiol. Methods*, 67, 310-320.

Nocker, A., Sossa Katherine, E., Camper Anne K., 2007. Molecular monitoring of disinfection efficacy using propidium monoazide in combination with quantitative PCR. *J. Microbiol. Methods*, 70, 252-260.

O

Ochuma I.J., Fishwick R.P., Wood J., Winterbottom J.M., 2007. Optimisation of degradation conditions of 1,8-diazabicyclo [5.4.0] undec-7-ene in water and reaction kinetics analysis using a co-current down flow contactor photocatalytic reactor. *Appl. Catal. B*, 73, 259-268.

Oliver J.D., Dagher M., Linden K., 2005. Induction of *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium* into the viable but nonculturable state following chlorination of wastewater. *J. Water Health* 3, 249-257.

Ollis D.F. 2005. Kinetics of liquid phase photocatalyzed reactions: an illuminating approach. *J. Phy. Chem. B*, 109, 2439–2444.

Ollis D.F., Pelizzetti E., Serpone N., 1991. Photocatalyzed destruction of water contaminants. *Environ. Sci. Technol.*, 25, 1522-1529.

Otaki M., Hirata T., Oghaki S., 2000. Aqueous microorganisms inactivation by photocatalytic reaction. *Water Sci. Technol.*, 42, 103–108.

P

Pablos C., van Grieken R., Marugán J., Chowdhury I., Walker S. L., 2013. Study of bacterial adhesion onto immobilized TiO₂: Effect on the photocatalytic activity for disinfection applications. *Catal. Today*, 209, 140-146.

Pablos C., van Grieken R., Marugan J., Moreno B., 2011. Photocatalytic inactivation of bacteria in a fixed-bed reactor: mechanistic insights by epifluorescence microscopy. *Catal. Today*, 161, 133-139.

Pal A., 2007, TiO₂ mediated photocatalytic inactivation of airborne bacteria, Thèse de doctorat d'université, National University of Singapore, Singapore, 134 p.

Pal A., Min X., Yu L.E., Pehkonen S.O., Ray M.B., 2005. Photocatalytic inactivation of bioaerosols by TiO₂ coated membrane. *Int. J. Chem. Reactor Eng.*, 3, A45.

Pal A., Pehkonen S.O., Yu L.E., Ray M. B., 2008. Photocatalytic inactivation of airborne bacteria in a continuous-flow reactor. *Ind. Eng. Chem. Res.*, 47, 7580–7585.

Parra S., Olivero J., Pulgarin C., 2002. Relationships between physicochemical properties and photoreactivity of four biorecalcitrant phenylurea herbicides in aqueous TiO₂ suspension, *Appl. Catal., B*, 36, 75-85

Pfeiffer V., Barbeau B., 2014. Validation of a simple method for predicting the disinfection performance in a flow-through contactor. *Water Res.*, 49, 144-56.

Pham H.N., McDowell T., Wilkins E., 1995. Photocatalytically mediated disinfection of water using TiO₂ as a catalyst and spore forming *Bacillus Pumulus* as a model. *Environ. Sci. Health A*, 30, 627-636.

Pichat P., 1994. Partial or complete heterogeneous photocatalytic oxidation of organic compounds in liquid organic or aqueous phases. *Catal Today*, 19, 313-333.

Pichat P., Disdier J., Hoang-Van C., Mas D., Goutailler G., Gaysse C., 2000. Purification/deodorization of indoor air and gaseous effluents by TiO₂ photocatalysis, *Catal.today*, 63, 363-369.

Pigeot-Remy S., Simonet F., Errazuriz-Cerda E., Lazzaroni J.C., Atlan D., Guillard C., 2011. Photocatalysis and disinfection of water: Identification of potential bacterial targets. *Appl. Catal. B*, 104, 390-398.

Pinto D., Santos M.A., Chambel L., 2013. Thirty years of viable but nonculturable state research: Unsolved molecular mechanism [J]. *Crit. Rev. Microbiol.*, 1549-7828.

Plantard G., 2014. Du matériau divisé au photo-réacteur solaire, HDR, Université de Perpignan Via Domitia, Perpignan, 186p.

Plantard G., Goetz V., 2014. Correlations between optical, specific surface and photocatalytic properties of media integrated in a photo-reactor, *Chem. Eng.* 252, 194-201.

Plantard G., Goetz V., Sacco D., 2011. TiO₂-coated foams as a medium for solar catalysis. *Mater. Res. Bull.*, 46, 231-234.

Plantard G., Janin T., Goetz V., Brosillon S., 2012. Solar photocatalysis treatment of phytosanitary refuses: Efficiency of industrial photocatalysts. *Appl. Catal. B*, 115-116, 38-44.

Plesh G., Gorbar M., Vogt U., Jesenak K., Vargova M., 2009. Reticulated macroporous ceramic foam supported TiO₂ for photocatalytic applications, *Mater. Lett.* 63, 461-463.

Q

Queffeuilou A., 2009. Etude cinétique de la dégradation photocatalytique de composés organiques volatils (COV) et modélisation par une approche numérique de la mécanique des fluides Thèse de doctorat d'université, Nancy, Institut National Polytechnique De Lorraine, 279p.

R

Raillard C., Héquet V., Le Cloirec P., Legrand J., 2005. TiO₂ coating types influencing the role of water vapour on the photocatalytic oxidation of methyl ethyl ketone in the gas phase, *Appl. Catal. B*, 59, 213- 220

Ravel J., Knight I.T., Monahan C.E., Hill R.T., Colwell R.R., 1995. Temperature-induced recovery of *Vibrio cholerae* from the viable but nonculturable state: growth or resuscitation? *Microbiol.*, 141, 377–383.

Rincón A. G., Pulgarin C., 2003. Photocatalytical inactivation of *E. coli*: effect of (continuous–intermittent) light intensity and of (suspended–fixed) TiO₂ concentration. *Appl. Catal. B*, 44, 263–284.

Rincon A.G., Pulgarin C., 2004. Bactericidal action of illuminated TiO₂ on pure *Escherichia coli* and natural bacterial consortia: post-irradiation events in the dark and assessment of the effective disinfection time. *Appl. Catal. B*, 49, 99-112.

Rincon A.G., Pulgarin C., 2004. Effect of pH, inorganic ions, organic matter and H₂O₂ on *E. coli* K12 photocatalytic inactivation by TiO₂-implications in solar water disinfection. *Appl. Catal. B*, 51, 283-302.

Rincón A.G., Pulgarin C., 2006. Comparative evaluation of Fe^{3+} and TiO_2 photoassisted processes in solar photocatalytic disinfection of water, *Appl. Catal. B*, 63, 222-231

Robertson J.M.C, Robertson P.K.J., Lawton L.A., 2005. A comparison of the effectiveness of TiO_2 photocatalysis and UVA photolysis for the destruction of three pathogenic microorganisms. *J. Photochem. Photobiol. A*, 175, 51-56.

Rosen H., Lowther F.E., Clark R.G., 1975, Economical wastewater disinfection with ozone, In disinfection of water and wastewater, Ed. Johnson J.D. Ann. Arbor Publishers.

Roy D., Chian E.S.K., Engelbrecht R.S., 1981. Kinetics of enteroviral inactivation by ozone. *J. Environm. Eng. Div.*, 107, 887-901.

S

Saito T., Iwase T., Horie J., Morioka T., 1992. Mode of photocatalytic bactericidal action of powdered semiconductor TiO_2 on mutants streptococci. *J. Photochem. Photobiol. B*, 14, 369-379.

Santos A.L., Oliveira V., Baptista I., Henriques I., Gomes N.C.M., Almeida A., Correia A., Cunha A., 2013. Wavelength dependence of biological damage induced by UV radiation on bacteria. *Arch. Microbiol.*, 195, 63-74.

Sauer M., Ollis D., 1996. Photocatalyzed oxidation of ethanol and acetaldehyde in humidified air. *J. Catal.*, 158, 570-582.

Schindler K.M., Kunst M., 1990. Charge-carrier dynamics in titanium powders. *J. Phy. Chem.*, 94, 8222-8226.

Schwartzbrod J., Schwartzbrod L., 1999. Les agents biologiques d'intérêt sanitaire des boues d'épuration urbaines. Connaitre pour agir, Guide des cahiers techniques – ADEME 183.

Seux R., 1979, Désinfection des eaux usées par les agents chimiques : chlore, dioxyde de chlore, brome et ozone, In Journées d'information sur la désinfection des eaux usées, Rennes, Ecole Nationale de la Santé Publique, Agence de Bassin Loire-Bretagne, Gilbert B. et Seux R., 59-91.

Severin B.F., Suidan M.T., Engelbrecht R.S., 1983. Kinetic modeling of U.V disinfection of water. *Water Res.*, 17, 1669-1678.

Shang J., Li W., Zhu Y., 2003. Structure and photocatalytic characteristics of TiO_2 film photocatalyst coated on stainless steel webnet, *J. Mol. Catal. A*, 202, 187-195.

Shiragami C. P.C., Yanagida S., 1989. Nonmetallized CDS-catalysed photoreduction of the aromatic ketones to alcohols and or pinacols, *J. Chem., Com.*, 831-832.

Sichel C., Tello J.C., De Cara-Garcia M., Fernández-Ibáñez P., 2007. Effect of UV solar intensity and dose on the photocatalytic disinfection of bacteria and fungi, *Catal. Today*, 129, 152-160.

Sichel, C., Blanco, J., Malato, S., Fernandez-Ibanez, P., 2007. Effects of experimental conditions on *E. coli* survival during solar photocatalytic water disinfection. *J. Photochem. Photobiol. A*, 189, 239 – 246.

Simmons F.J., Xagorarakis I., 2011. Release of infectious human enteric viruses by full-scale wastewater utilities. *Water Res.*, 45, 3590-3598.

Spuhler D., Andrés Rengifo-Herrera J., Pulgarin C., 2010. The effect of Fe^{2+} , Fe^{3+} , H_2O_2 and the photo-Fenton reagent at near neutral pH on the solar disinfection (SODIS) at low temperatures of water containing *Escherichia coli* K12, *Appl. Catal. B*, 96, 126-141.

Stinear T., Matusan A., Hines K., Sandery M., 1996. Detection of a single viable *Cryptosporidium parvum* oocyst in environmental water concentrates by reverse transcription-PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 3385–3390.

Sun J., Qiao L., Sun S., Wang G., 2008. Photocatalytic degradation of Orange G on nitrogen-doped TiO_2 catalysts under visible light and sunlight irradiation. *J. Hazard. Mater.*, 155, 312-319.

Sunada K., Watanabe T., Hashimoto K., 2003. Studies on photokilling of bacteria on TiO_2 thin film. *J. of Photochem. Photobiol. A*, 156, 227-233.

T

Thiebaud J., Thevent F., Fittschen C., 2010. OH radicals and H_2O_2 molecules in the gas phase near to TiO_2 surfaces, *J. Phys. Chem. C*, 114, 3082-3088.

Touchagues G., 2012. Validation Expérimentale du Modèle à Deux Flux pour le Transfert Radiatif en Milieu Hétérogène& Détermination des Constantes Optiques du TiO_2 , Rapport de stage Master 1.

Toze S., 1999. PCR and the Detection of Microbial Pathogens in Water and Wastewater. *Water Res.*, 33, 3545–3556.

Turchi C.S., Ollis D.F., 1990. Photocatalytic degradation of organic water contaminants: mechanisms involving hydroxyl radical attack, *J. Catal.*, 122, 178-192.

Tyrell R., 1973. Induction of pyrimidine dimers in bacterial DNA by 365 nm radiation. *Photochem. Photobiol. Sci.*, 17, 69-73.

U

Ubomba-Jaswa C., Navntof M.I., Polo-Lopez P., Fernandez-Ibanez K.G., McGuigan K.G., 2009. Solar disinfection of drinking water (SODIS): an investigation of the effect of UV-A dose on inactivation efficiency. *Photochem. Photobiol. Sci.* 8, 587-595.

V

Van Grieken R., Marugan J., Sordo C., Pablos C., 2009. Comparison of the photocatalytic disinfection of *E. coli* suspensions in slurry, wall and fixed-bed reactors. *Catal. Today*, 144, 48-54.

Venieri D., Chatzisyneon E., Gonzalo M. S., Rosal R., Mantzavinos D., 2011, Inactivation of *Enterococcus faecalis* by UV and solar irradiation in water and wastewater: culture techniques never say the whole truth. *Photochem. Photobiol.Sci.*, 10, 1744–1750.

Venieri D., Chatzisyneon E., Sofianos S. S., Politi E., Xekoukoulotakis N. P., Mantzavinos D., Katsaounis A., 2012. Removal of faecal indicator pathogens from waters and wastewaters by photoelectrocatalytic oxidation on TiO₂/Ti films under simulated solar radiation. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 19, 3782-3790.

W

Watts R.J., Kong S., Orr M.P., Miller G.C., Henry B.E., 1995. Photocatalytic inactivation of coliform bacteria and viruses in secondary wastewater effluent, *Water Res.* 29, 95-100.

Weavers L.K., Wickramanayake G.B., 2001. Kinetics of inactivation of microorganisms, in: S.S. Block (Ed.), *Disinfection, sterilization, and preservation*, Lippincott Williams & Wilkins, 65-78.

Wegelin M., Canonica S., Mechsner K., Fleischmann T., Pesaro F., Metzler A., 1994. Solar water disinfection: scope of the process and analysis of radiation experiments. *J. Water SRT-Aqua*, 43, 154-169.

Wei C., Lin W., Zainal Z., Williams N., Zhu K., Kruzic A. P., 1994. Bactericidal activity of TiO₂ photocatalyst in aqueous media: toward a solar- assisted water disinfection system. *Environ. Sci. Technol.*, 28, 934-938.

Wery N., Lhoutellier C., Ducray F., Ducray F., Delgenes J.P., Godon J.J., 2008. Behaviour of pathogenic and indicator bacteria during urban wastewater treatment and sludge composting, as revealed by quantitative PCR. *Water Res.*, 42, 53-62.

WHO, 2006. Guidelines for the Safe Use of Wastewater, Excreta and Grey water .Wastewater Use in Agriculture, FAO-UNEP, 2, 215.

Winfield M.D., Groisman E.A., 2003. Role of non host environments in the lifestyles of *Salmonella* and *Escherichia coli*. *Appl. Environ.Microbiol.*, 69, 3687–3694.

Wist J., Sanabria J., Dierolf C., Torres W., Pulgarin C., 2002. Evaluation of photocatalytic disinfection of crude water for drinking-water production. *J. Photochem. Photobiol. A*, 147, 241-246.

Y

Yu J.C., Yu J., Zhao J., 2002. Enhanced photocatalytic activity of mesoporous and ordinary TiO₂ thin films by sulfuric acid treatment, *Appl. Catal. B*, 36, 31-43.

Z

Zaviska F., Drogui P., Mercier G., Blais J.F., 2009. Procédés d'oxydation avancée dans le traitement des eaux et des effluents industriels: Application à la dégradation des polluants réfractaires, *Rev. des sciences de l'eau*. 22, 535-564.

Zhang P., Scrudato R.J., Germano G., 1994. Solar catalytic inactivation of *Escherichia coli* in aqueous solutions using TiO_2 as a catalyst, *Chemosphere* 28, 607-611.

Zhukova L.V., Vitaly J. K, Nikandrov V., 2012. TiO_2 nanoparticles suppress *Escherichia coli* cell division in the absence of UV irradiation in acidic conditions, *Colloids Surf. B*, 97, 240-247.

RESUME

L'étude présentée dans ce mémoire s'inscrit dans le cadre de la réutilisation des eaux usées traitées par un procédé d'oxydation avancée (AOP), la photocatalyse hétérogène. Ce procédé, couplant le rayonnement UV et l'utilisation d'un photocatalyseur (TiO_2) au sein d'un réacteur, est envisagé comme procédé de traitement tertiaire pour la désinfection des effluents des secondaires. Les expérimentations photocatalytiques ont été réalisées sur une bactérie cible, *E. coli*. Elles ont été conduites en mode batch puis en mode continu. Les expérimentations en mode batch ont été réalisées sous irradiation contrôlée puis solaire. Les données expérimentales acquises sous irradiation contrôlée ont permis la comparaison des performances bactéricides de différents catalyseurs. Elles ont conduit en parallèle à la définition d'un modèle cinétique représentatif de la capacité bactéricide de chaque média. Ce modèle tient compte de la densité de flux d'irradiation et de l'interaction bactéries/catalyseur. Les expérimentations solaires ont permis de valider le modèle cinétique sous irradiation solaire puis, d'étudier l'inactivation bactérienne dans un effluent réel. Par ailleurs, le potentiel bactéricide du traitement photocatalytique en régime permanent a été évalué. Le fonctionnement du procédé continu a été parfaitement décrit par un modèle cinétique se basant sur la loi initialement définie en mode batch. Finalement, l'inactivation d'*E. coli* a été évaluée par différentes techniques de quantification bactérienne. Cela a permis d'apporter des informations sur l'état de viabilité des bactéries au cours du traitement photocatalytique et de décrire le mécanisme principal d'inactivation bactérienne par voie photocatalytique, la lyse membranaire.

Mots clés : Photocatalyse hétérogène, Désinfection solaire, Catalyseur en suspension, Catalyseur supporté, Adhésion bactérienne, Cinétique de désinfection, Modèle cinétique.

ABSTRACT

The study presented in this paper is part of the reuse of treated wastewater by advanced oxidation process (AOP), the heterogeneous photocatalysis. This process, coupling the UV radiation and the use of a photocatalyst (TiO_2) in a reactor, is envisaged as tertiary treatment process for disinfection of said secondary effluent. Photocatalytic experiments were performed on a target bacterium, *E. coli*. They were conducted in batch and continuous mode. The experiments in batch mode were performed under controlled irradiation and sunlight. The experimental data obtained under controlled irradiation allowed the comparison of the bactericidal performance of different catalysts. They led in parallel to the definition of a representative kinetic model of the bactericidal capacity of each medium. Solar experiments were used to validate the kinetic model under solar irradiation and then to study the bacterial inactivation in a real effluent. Furthermore, the potential of the photocatalytic bactericidal treatment at steady state was evaluated. The operation of the continuous process has been thoroughly described by a kinetic model based on the kinetic law originally defined in batch mode. Finally, inactivation of *E. coli* was evaluated by different bacterial quantification techniques. This has made it possible to highlight the main mechanism of the photocatalytic bacterial inactivation, the membrane lysis. It provided information about the "real" state of the bacteria viability during the photocatalytic treatment.

Keywords: Heterogeneous Photocatalysis, Solar disinfection, Suspended catalyst, Supported catalyst, Bacterial adhesion, Disinfection kinetic, Kinetic model.